

Bedeutung des Vorderhirns für die audiomotorische Integration bei Froschlurchen (*Anura*)

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

zur

Erlangung des Doktorgrades

der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

der Universität zu Köln

vorgelegt von

Katja Roden

aus Bendorf

Köln 2002

Berichterstatter: Prof. Dr. Wolfgang Walkowiak
Prof. Dr. Ansgar Büschges

Tag der letzten mündlichen Prüfung: 17.02.03

Meinen Eltern

Inhalt

1. EINLEITUNG.....	1
1.1. EINFÜHRUNG IN DIE THEMATIK.....	1
1.2. NEURONALE GRUNDLAGEN.....	4
1.3. ZIELSETZUNG	7
2. MATERIAL UND METHODEN	10
2.1. VERSUCHSTIERE	10
2.2. HIRNPRÄPARATION.....	11
2.2.1. Anästhesie	11
2.2.2. Perfusion	12
2.2.3. Isolation des Gehirns.....	12
2.3. VERSUCHSDURCHFÜHRUNG.....	13
2.3.1. Versuchsaapparatur.....	13
2.3.2. Ableit- und Stimulationselektroden	16
2.3.3. Allgemeiner Versuchsablauf.....	17
2.4. EXTRAZELLULÄR- UND INTRAZELLULÄRABLEITUNGEN	19
2.4.1. Extrazellulärableitungen	19
2.4.2. Intrazellulärableitungen.....	20
2.5. TRACINGSTUDIEN UND EINZELZELLANFÄRBUNGEN	21
2.5.1. Verwendeter Marker	21
2.5.2. Extrazelluläre Tracingstudien	22
2.5.3. Intrazelluläre Einzelzellanfärbungen.....	24
2.5.4. Aufarbeitung der Präparate	24
2.6. AUSWERTUNG	26
2.6.1. Physiologische Befunde.....	26
2.6.2. Anatomische Befunde	27
3. ERGEBNISSE.....	31
3.1. EXTRAZELLULÄRABLEITUNGEN	31
3.1.1. Methodische Befunde.....	31
3.1.2. Extrazellulärableitungen im Diencephalon	32
3.1.3. Extrazellulärableitungen im Striatum.....	42
3.2. EXTRAZELLULÄRE TRACINGSTUDIEN.....	47
3.2.1. Methodische Befunde.....	47
3.2.2. Durchgeführte Experimente	48

3.2.3. Befunde zu den thalamischen Kernen	51
3.2.4. Befunde zum Striatum.....	81
3.2.5. Befunde zu den septalen Kernen	90
3.3. INTRAZELLULÄRABLEITUNGEN UND EINZELZELL-ANFÄRBUNGEN	104
3.3.1. Methodische Befunde.....	104
3.3.2. Physiologische Befunde	106
3.3.3. Anatomische Befunde	111
4. DISKUSSION	123
4.1. METHODISCHES	123
4.1.1. Das <i>in vitro</i> -Ganzhirnpräparat.....	123
4.1.2. Extrazelluläerableitungen	124
4.1.3. Extrazelluläre Tracingstudien	125
4.1.4. Intrazelluläerableitungen.....	127
4.1.5. Intrazelluläre Einzelzellanfärbungen.....	128
4.2. DER THALAMUS	129
4.2.1. Physiologische Befunde.....	130
4.2.2. Anatomische Befunde	135
4.3. DIE BASALGANGLIEN	141
4.3.1. Anatomische Befunde	142
4.3.2. Physiologische Befunde.....	153
4.4. DAS LIMBISCHE SYSTEM.....	159
4.4.1. Anatomische Befunde	160
4.5. SENSOMOTORISCHE INTEGRATION IM VORDERHIRN DER ANUREN	164
4.5.1. Sensomotorische Integration im Diencephalon.....	164
4.5.2. Sensomotorische Integration im Telencephalon	167
4.5.3. Schlussbetrachtung zur audiomotorischen Integration bei Anuren	168
5. ZUSAMMENFASSUNG.....	170
6. LITERATUR	172
7. ANHANG	186
8. ABKÜRZUNGSLISTE	195

1. Einleitung

1.1. Einführung in die Thematik

Über sensorische Systeme erhält ein Organismus Informationen über unterschiedlichste Aspekte seiner Umwelt. Eine Reaktion auf sensorische Reize wird über motorische Systeme ermöglicht. Die Sensomotorik beschäftigt sich mit der Frage, welche Strukturen und Mechanismen als Bindeglieder zwischen sensorischem Eingang und motorischer Antwort fungieren, denn die eintreffenden Sinnesinformationen müssen verarbeitet und bewertet werden, bevor eine reizadäquate, biologisch sinnvolle Antwort eingeleitet werden kann. Die Sensomotorik stellt ein in der neurobiologischen Forschung wenig bearbeitetes Thema dar. Zwar ist das Wissen um die neuronalen Details der Sinneswahrnehmung sowie der motorischen Steuerung in den letzten Jahrzehnten sprunghaft angestiegen, über die zwischen Sensorik und Motorik vermittelnden Interfacestrukturen ist hingegen vergleichsweise wenig bekannt.

Die audiomotorische Integration bei den Anuren stellt ein geeignetes System dar, um grundlegende neuronale Mechanismen der sensomotorischen Integration bei Wirbeltieren aufzuklären. Das Anurengehirn entspricht im Grundbauplan einem typischen Wirbeltiergehirn (Roth & Wullmann 1996). Anuren weisen gegenüber anderen Wirbeltieren jedoch eine Reihe von Vorteilen für neurobiologische Untersuchungen auf. So erleichtern die vergleichsweise geringe Anzahl von Neuronen und der geringe Komplexitätsgrad des Gehirns experimentelle Studien. Anuren sind zudem die ursprünglichsten rezenten Wirbeltiere, die eine akustische Kommunikation über Luftschall einsetzen; die neuronalen Verarbeitungsprozesse akustischer Signale könnten somit weniger komplex sein als bei anderen Wirbeltiergruppen. Das Rufrepertoire der Anuren ist sehr begrenzt, wobei die

verschiedenen Ruftypen relativ einfach strukturiert sind und sich experimentell leicht simulieren lassen (Capranica 1965; Gerhardt 1982). Den Ruftypen lassen sich gut untersuchte Verhaltensweisen zuordnen, beispielsweise im Zusammenhang mit dem Paarungsverhalten und der Revierabgrenzung (Wells 1977; Brzoska 1982; Cherry 1993; Gerhardt & Huber 2002). Dadurch ergibt sich die Möglichkeit, die Untersuchung neuronaler Verarbeitungsprozesse mit verhaltensanalytischen Studien zu kombinieren. Im neurobiologischen Experiment kann außerdem das komplette Gehirn von Anuren isoliert und für mehrere Tage am Leben erhalten werden (Luksch 1994; Luksch et al. 1996). Das Ganzhirnpräparat bietet die Möglichkeit, *in vitro* elektrophysiologische, pharmakologische und anatomische Untersuchungen durchzuführen. Dabei bleibt - anders als etwa bei Slice- oder Blockpräparaten von Vögeln oder Säugern - die Konnektivität des Gehirns vollständig erhalten. Das gesamte neuronale Netzwerk von Anuren ist somit von der neuronalen Ebene bis zur Verhaltensebene experimentell gut zugänglich und erlaubt die Untersuchung allgemeiner Mechanismen der Verarbeitung auditorischer Informationen an einem relativ einfach strukturierten Wirbeltiergehirn.

Eingesetzt wird die akustische Kommunikation bei Anuren hauptsächlich im Rahmen der Fortpflanzung. Während der Paarungszeit ist das Verhalten der Tiere sehr stark durch akustische Signale gesteuert. Die Männchen verfügen in der Regel über vier bis fünf verschiedene Ruftypen, die bei Artgenossen weitgehend genetisch determinierte Verhaltensweisen auslösen (Capranica 1965). So führt beispielsweise bei einer Reihe von Spezies der Paarungsruf der Männchen bei paarungsbereiten Weibchen zu phonotaktischem Verhalten. Andere Männchen werden selbst zum Rufen angeregt oder zeigen bei aggressivem Verhalten ebenfalls Phonotaxis (Gerhardt & Huber 2002). Neben der Auslösung willkürlicher Bewegungen konnten verschiedene autonome Antworten auf arteigene Rufe demonstriert werden, etwa Hormonproduktion (Brzoska & Obert 1980), elektrodermale Reaktionen (Brzoska 1984) und Veränderungen des Herzschlags (Megela-Simmons et al. 1985).

Trotz der genetischen Determination zeigt das akustisch gesteuerte Verhalten der Anuren eine gewisse Variabilität. Es kann von verschiedenen Faktoren beeinflusst werden, z.B. vom internen Status eines Individuums, von der Jahres- oder Tageszeitperiodik, vom sozialen Kontext und bei einigen Spezies auch von Lernprozessen (Davis 1988). Eine sehr häufig auftretende Verhaltensreaktion im Zusammenhang mit der Rufgenerierung ist beispielsweise die Anpassung der eigenen Rufphase an die eines anderen oder mehrerer rufender Männchen. Durch dieses „Wechselrufen“ bleiben die Rufe einzelner Männchen in einer größeren

Gruppe von Artgenossen besser detektierbar (Foster 1967; Schwartz & Wells 1983; Walkowiak 1988).

Die Variabilität des auditorisch gesteuerten Verhaltens setzt voraus, dass das zugrunde liegende Netzwerk in Abhängigkeit von unterschiedlichen Faktoren moduliert werden kann. Um auf verschiedene Parameter akustischer Informationen differenziert reagieren zu können, müssen diese Parameter unabhängig voneinander analysiert, verarbeitet und in adäquate Verhaltensweisen umgesetzt werden. Da periphere Strukturen der Hörbahn der Anuren auf ein sehr breites Spektrum von akustischen Stimuli reagieren (Walkowiak 1992; Hall 1994), müssen die an der Modulation beteiligten Strukturen im Zentralnervensystem liegen. Für den im Mesencephalon gelegenen Torus semicircularis konnte bereits eine entscheidende Rolle bei der audiomotorischen Integration nachgewiesen werden. So reagieren Neuronen des Torus differenziert auf bestimmte Parameter akustischer Signale. Gleichzeitig sind sie in der Lage, über eine Vielzahl von efferenten Projektionen motorische und autonome Reaktionen als Antwort auf einen Stimulus einzuleiten (Luksch 1994; Walkowiak & Luksch 1994; Luksch & Walkowiak 1998).

Auch im Vorderhirn gibt es eine Reihe von Strukturen, die an der Verarbeitung auditorischer Informationen beteiligt sind und bei denen durch Läsionsstudien nachgewiesen werden konnte, dass sie die Phonotaxis der Weibchen und das Rufverhalten der Männchen beeinflussen. So bewirkten Läsionen des Septum, des Striatum oder der präoptischen Region bei Weibchen von *Hyla versicolor* eine Verzögerung bzw. ein Ausbleiben der Phonotaxis. Bei männlichen Individuen führten septale Läsionen zu einer Rufenthemmung bei gleichzeitiger Beeinträchtigung des Wechselrufens, während bei Läsionen des Striatum das Rufen vollständig ausblieb (Walkowiak et al. 1999). Großflächige Läsionen im Thalamus von *Hyla versicolor* führten bei Weibchen zu Verzögerungen und starken Beeinträchtigungen der Phonotaxis (Endepols et al. eingereicht [a]). Vorderhirnstrukturen beeinflussen demnach das akustisch gesteuerte Verhalten der Anuren. Sie sind jedoch, anders als der Torus semicircularis, nicht notwendigerweise an der Ruferkennung beteiligt. Vermutlich spielt das Vorderhirn vielmehr eine Rolle bei der Handlungsselektion und bei der Anpassung des Verhaltens an bestimmte Umweltsituationen, wobei auch der interne Status eines Individuums berücksichtigt wird (Endepols et al. eingereicht [a]).

Die Beeinflussung motorischer Verhaltensreaktionen durch Vorderhirnstrukturen könnte auf unterschiedlichen Wegen erfolgen. So könnten sie direkt prämotorische und motorische Zentren ansteuern und auf diese Weise den motorischen Output

modulieren. Die Phonotaxis der Weibchen und das Rufverhalten der Männchen werden aber auch durch den hormonellen Status der Individuen beeinflusst (Schmidt 1968, 1984). An der Regulation von Sexualhormonen sind die präoptische Region und der ventrale Hypothalamus beteiligt (Dierickx 1974; Hanke 1976; McCreery 1984). Über eine Innervierung dieser Kerngebiete könnten Vorderhirnstrukturen modulierend auf die Hormonproduktion einwirken und auf diesem Weg das akustisch gesteuerte Verhalten beeinflussen. Schließlich könnte der motorische Output auch über die Ausschüttung von Neuromodulatoren verändert werden.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war die Untersuchung unterschiedlicher Vorderhirnstrukturen, bei denen es Hinweise auf eine Beteiligung an audiomotorischen Integrationsprozessen gab (vgl. 1.3.). Im folgenden Abschnitt soll zunächst ein Überblick über die bisher bekannten Informationen bezüglich der Verarbeitung akustischer Signale und der Ansteuerung motorischer und autonomer Zentren bei Anuren gegeben werden, um das Verständnis der durchgeführten Experimente zu ermöglichen.

1.2. Neuronale Grundlagen

Charakteristisch für sensorische Systeme im Gehirn von Wirbeltieren sind eine parallel-hierarchische Verarbeitung und ein modularer Aufbau der daran beteiligten Strukturen. Auch die Hörbahn der Amphibien zeichnet sich durch diese Merkmale aus.

Akustische Signale führen zunächst zu einer Erregung von Rezeptorzellen in der Papilla amphibiorum und der Papilla basilaris im Innenohr. Diese beiden auditorischen Organe der Anuren werden von Fasern des posterioren Astes der Nervus stato-acusticus (N. VIII) innerviert (Will & Fritsch 1988). Über diese Fasern werden auditorische Informationen zur ersten Hörbahnstation in der Medulla oblongata, dem ipsilateralen Nucleus dorsolateralis, weitergeleitet. Vom Nucleus dorsolateralis ziehen die Hauptprojektionen zur contralateralen Seite. Die folgenden Hörbahnstationen sind die Oliva superior und der Nucleus lemnisci lateralis in der Medulla oblongata sowie der Torus semicircularis im Mesencephalon. Dabei ziehen die Projektionsfasern eines Kerngebietes parallel zu mehreren nachgeschalteten Stationen, beispielsweise vom Nucleus dorsolateralis zum Nucleus lemnisci lateralis, zur Oliva superior und zum Torus (Pettigrew 1981; Wilczynski 1981; Feng 1986a, b). Neben den aufsteigenden Projektionen sind die verschiedenen Kerne zusätzlich mit

niedrigeren Stationen der Hörbahn verbunden. Dabei weist im Allgemeinen jeder Kern deszendierende Projektionen zu den beiden ihm unmittelbar vorgeschalteten Stationen auf (Feng 1986a, b). Durch diese reziproken Verschaltungen können die Kerne ihren eigenen auditorischen Eingang modulieren, indem bestimmte Informationen unterdrückt und andere verstärkt werden.

Parallel-hierarchische Verarbeitung der auditorischen Informationen und reziproke Verschaltungen charakterisieren auch alle weiteren Stationen der Hörbahn. Um ein besseres Verständnis zu gewährleisten, werden im Folgenden jedoch nur die Hautprojektionen beschrieben. Der Torus semicircularis beinhaltet drei auditorische Subnuclei (Potter 1965): Der Nucleus principalis ist die Haupteingangsstruktur, während die Weiterleitung auditorischer Informationen zu den im Diencephalon gelegenen Thalamuskernen hauptsächlich über den Nucleus magnocellularis und den Nucleus laminaris erfolgt (Feng 1986a, b; Wilczynski 1981; Feng & Lin 1991; Luksch 1994; Walkowiak und Luksch 1984; Hall & Feng 1987). Im Thalamus der Anuren wird ein dorsaler von einem ventralen Bereich unterschieden, beide Bereiche gliedern sich in mehrere Kerngebiete (Neary & Northcutt 1983). In den bisherigen Vorstellungen zur Hörbahn der Anuren wurde davon ausgegangen, dass nur Kerne des dorsalen Thalamus auditorische Informationen erhalten und zum Telencephalon weiterleiten, nämlich der centrale, posteriore und anteriore Thalamus. In allen drei thalamischen Kerngebieten konnten auditorisch evozierte Potentiale registriert werden, wobei die Kerne an der Verarbeitung verschiedener temporaler und spektraler Parameter akustischer Signale beteiligt sind (Mudry et al. 1977; Megela 1982; Fuzessery & Feng 1983; Megela & Capranica 1983; Mudry & Capranica 1987a, b; Hall & Feng 1986, 1987; Fuzessery 1988; Feng et al. 1990). Im Telencephalon wiederum wurde auditorisch evozierte Aktivität im Striatum und im Pallium mediale nachgewiesen (Supin & Guselnikov 1964; Mudry & Capranica 1980; Birkhofer et al. 1994; Mihaescu 1998). Aktuelle Untersuchungen zeigten, dass auch die septalen Kerne der Anuren auditorische Eingänge erhalten (Klein 2000; Endepols & Walkowiak 2001). Über die Weiterleitung auditorischer Informationen zu den verschiedenen Strukturen des Telencephalon wurde längere Zeit spekuliert. In den siebziger Jahren wurde erstmals gezeigt, dass der centrale Thalamus starke efferente Projektionen zum Striatum aufweist, spätere Untersuchungen bestätigten diesen Befund (Kicliter & Northcutt 1975; Kicliter 1979; Wilczynski & Northcutt 1983a; Hall & Feng 1987; Marín et al. 1997b). Das Pallium mediale erhält hingegen Eingänge aus dem anterioren Thalamus (Scalia & Colman 1975; Kicliter & Northcutt 1975; Kicliter 1979; Neary 1984, 1988, 1990; Northcutt & Ronan 1992). Es wurde

daher vermutet, dass der centrale und der anteriore Thalamus auf getrennten Wegen auditorische Informationen zu ihren telencephalen Zielgebieten weiterleiten (Hall & Feng 1986, 1987; Feng et al. 1990). Über die Weiterleitung auditorischer Informationen zu den septalen Kernen ist wenig bekannt, da keine gezielten Untersuchungen zu den Verschaltungen dieser Kerngebiete durchgeführt wurden.

Wie bereits erläutert, lösen arteigene Rufe bei Anuren unterschiedliche Verhaltensweisen wie Rufverhalten und Phonotaxis aus. Diese Reaktionen setzen die Aktivität unterschiedlicher Muskeln voraus, welche über neuronale Strukturen reguliert wird. So werden beispielsweise die für die Vokalisation der Männchen verantwortlichen Muskeln des Mundbodens und des Larynx von Motoneuronen des Nervus trigeminus (N. V), Nervus facialis (N. VII), Nervus vagus (N. X) und Nervus hypoglossus (N. XII) angesteuert. Die ebenfalls an der Vokalisation beteiligte Flankenmuskulatur wird über Spinalnerven innerviert (Walkowiak 1992; Strake et al. 1994). Die entsprechenden Motorkerne wiederum erhalten Eingänge aus prämotorischen Arealen, wie dem Nucleus praetrigeminalis, dem Nucleus visceralis secundarius und einer Reihe von Kernen der Formatio reticularis (Walkowiak 1992). Auch die an der Lokomotion beteiligten Motorkerne werden über Neuronen der Formatio reticularis und des Rückenmarks angesteuert (Wilczynski 1992). Diese prämotorischen Zentren sowie die Motorkerne selbst werden außerdem von verschiedenen Hirnstrukturen innerviert, die selbst Teil der Hörbahn sind oder auditorische Eingänge erhalten. Zu diesen Strukturen gehören der Torus semicircularis und das Tegmentum des Mesencephalon (Luksch 1994; Walkowiak & Luksch 1994; Luksch & Walkowiak 1998). Aber auch Vorderhirnstrukturen wie Teile des Thalamus, die präoptische Region und das Striatum zählen dazu. Von den thalamischen Kernen weisen der posteriore und der ventromediale Thalamus starke deszendierende Projektionen zum Hirnstamm und zum Rückenmark auf (Hall & Feng 1987). Die präoptische Region der Anuren umfasst die Area praeoptica anterior, den Nucleus praeopticus magnocellularis und den Nucleus suprachiasmaticus. Eine wichtige Rolle der präoptischen Region bei der Vokalisation der Männchen konnte mit Hilfe elektrischer Stimulationsexperimente dieses Hirngebietes nachgewiesen werden, bei denen Paarungsrufe ausgelöst werden konnten (Schmidt 1968; Knorr 1976; Wada & Gorbman 1977). Der ventrale Bereich der Area praeoptica anterior zeigte dabei die niedrigste Schwelle; er hatte eine Triggerfunktion und aktivierte den „Mating call generator“ im Hirnstamm (Urano & Gorbman 1981; Schmidt 1976, 1984). Vom Striatum ist bei Säugern eine Schlüsselfunktion bei der motorischen Steuerung bekannt (DeLong et al. 1986; Albin et al. 1989; Alexander & Crutcher 1990).

Anatomische Studien an Anuren wiesen Projektionen des Striatum zu zahlreichen an der motorischen Steuerung beteiligten Strukturen nach (Wilczynski & Northcutt 1983b; Marín et al. 1997c) und lassen eine vergleichbare Funktion vermuten. Verhaltensstudien zeigten außerdem, dass Läsionen des Striatum der Anuren zu Veränderungen oder Beeinträchtigungen des akustisch gesteuerten Verhaltens führen (Walkowiak et al. 1999).

Das Vokalisationsverhalten und die Phonotaxis der Anuren werden außerdem durch Hormone beeinflusst. So können beide Verhaltensweisen mit Hilfe von Gonadotropinen und Steroidhormonen stimuliert werden (Schmidt 1968, 1984). Läsionsexperimente (Dierickx 1974; Hanke 1976) und elektrische Stimulationsexperimente (McCreery 1984) zeigten, dass die präoptische Region und der ventrale Hypothalamus die Sekretion von Gonadotropinen und Steroidhormonen regulieren. Beide Areale konzentrieren selbst Steroidhormone, was auf einen hormonellen Feedback-Mechanismus schließen lässt (Kelley et al. 1975; Kelley 1980, 1981). Bei Männchen wird durch arteigene Rufe die Produktion von Steroidhormonen beeinflusst (Brzoska & Obert 1980). Außerdem wurde eine Veränderung der neuronalen Aktivität in der präoptischen Region und im ventralen Hypothalamus durch arteigene Rufe nachgewiesen (Urano & Gorbman 1981; Wilczynski & Allison 1989). Diese Befunde zeigen zusammenfassend, dass der hormonelle Status eines Individuums großen Einfluss auf sein akustisch gesteuertes Reproduktionsverhalten hat und dass die Hormonproduktion selbst durch akustische Signale beeinflusst werden kann, wobei die präoptische Region und der ventrale Hypothalamus eine Schlüsselrolle spielen.

1.3. Zielsetzung

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war eine genauere Untersuchung verschiedener Vorderhirnstrukturen von Anuren, bei denen es Hinweise auf eine Beteiligung an der audiomotorischen Integration gab. Dabei kamen elektrophysiologische und neuroanatomische Untersuchungsmethoden zum Einsatz. Die Untersuchungen wurden an Individuen der Arten *Hyla versicolor*, einem Vertreter der Neobatrachia, und *Bombina orientalis*, einem Vertreter der ursprünglicheren Archaeobatrachia, durchgeführt (Hay et al. 1995). Zu beiden Arten liegt eine Vielzahl neurophysiologischer und neuroanatomischer Untersuchungen vor, auch das Verhalten ist sehr gut dokumentiert (für eine Übersicht siehe Gerhardt & Huber 2002). Die vorliegenden Experimente wurden *in vitro* am isolierten Ganzhirnpräparat

durchgeführt, akustische Signale konnten durch eine elektrische Stimulation des N. VIII simuliert werden (Luksch et al. 1996).

Eine erste Frage beschäftigte sich mit den auditorischen Eingängen des Thalamus der Anuren. Zwar wurde in verschiedenen Kernen des dorsalen Thalamus auditorisch evozierte Aktivität nachgewiesen (vgl. 1.2.), es lag jedoch keine systematische Kartierung der auditorischen Zentren des Diencephalon vor. Mit Hilfe von Extrazellulärableitungen wurde in der vorliegenden Arbeit eine solche Kartierung durchgeführt. Die elektrophysiologischen Untersuchungen wurden mit Tracingstudien kombiniert, bei denen der neuronale Marker Neurobiotin verwendet wurde. Dies erlaubte die Untersuchung der Verschaltungen derjenigen thalamischen Kerne, bei denen auditorisch evozierte Aktivität nachgewiesen werden konnte. Dabei waren im Telencephalon besonders die Verschaltungen mit dem Striatum, dem Pallium mediale und den septalen Kernen von Interesse, da diese Kerne auditorische Eingänge erhalten (vgl. 1.2.). Die anatomischen Studien sollten zeigen, ob es innerhalb dieser Kerngebiete bestimmte Subareale gibt, in denen die auditorisch erregbaren Neuronen des Thalamus verstärkt terminieren. Außerdem wurden die Projektionen der thalamischen Kerne zu prämotorischen und motorischen Zentren sowie zu verschiedenen an der endokrinen Regulation beteiligten Strukturen studiert. Auf diese Weise sollte die Rolle des Thalamus als audiomotorisches Interface näher untersucht werden.

Im Striatum, Septum laterale und Septum mediale wurden ebenfalls Tracingstudien durchgeführt. Zu den Verschaltungen der septalen Kerne der Anuren liegen nur sehr wenige Informationen in der Literatur vor, da bisher keine anatomischen Studien in diesen Kerngebieten durchgeführt wurden. Auch die Verbindungen des Striatum der hier verwendeten Arten sind bisher nicht untersucht worden. Bei Tracingstudien im Telencephalon stand ebenfalls die Frage der audiomotorischen Integration im Vordergrund. In der vorliegenden Arbeit sollte daher untersucht werden, auf welchen Wegen auditorische Informationen zu diesen Kerngebieten gelangen können und ob sie selbst über efferente Projektionen die motorische Steuerung und die endokrine Regulation beeinflussen können.

Da sich das isolierte Hirnpräparat generell gut für neurophysiologische Untersuchungen auf der zellulären Ebene eignet, wurden in einem zweiten Versuchsansatz Intrazellulärableitungen im Striatum durchgeführt. Dabei wurden neben auditorischen auch visuelle Eingänge untersucht, um Informationen zur Verarbeitung multisensorischer Informationen in diesem Kerngebiet zu erhalten.

Optische Reize wurden durch eine elektrische Stimulation des Nervus opticus (N. II) simuliert. Auch bei den Einzelzellstudien wurden elektrophysiologische neuroanatomische Studien kombiniert. Durch eine iontophoretische Applikation von Neurobiotin im Anschluss an eine intrazelluläre Ableitung konnten die Cytoarchitektur und die axonalen Projektionsmuster der zuvor physiologisch charakterisierten Neuronen untersucht werden.

2. Material und Methoden

2.1. Versuchstiere

Die hier vorgestellten Untersuchungen wurden an Individuen der Arten *Hyla versicolor* bzw. *Bombina orientalis* durchgeführt, die beide Vertreter der Ordnung Anura (Froschlurche) sind.

Hyla versicolor (Grauer Laubfrosch) gehört zur Gattung *Hyla*, die 304 rezente Arten umfasst. Die Gattung *Hyla* gliedert sich ein in die Unterfamilie der *Hyliinae*, welche zur Familie der *Hylidae* gehört. Diese wird der Unterordnung der *Neobatrachia* zugeordnet (Ford & Cannatella 1993). *Hyla versicolor* ist eng verwandt mit der Art *Hyla chrysoscelis*. Äußerlich sind beide Arten kaum zu unterscheiden. *Hyla versicolor* hat jedoch einen tetraploiden Chromosomensatz, während *Hyla chrysoscelis* einen diploiden Chromosomensatz aufweist. Beide Arten sind in Nordamerika beheimatet, das Verbreitungsgebiet erstreckt sich zwischen New Brunswick, Florida, Manitoba und Central Texas. Außerhalb der Brutsaison sind sie selten am Boden oder direkt im Wasser zu finden, sie halten sich bevorzugt in relativ kleinen Bäumen oder in Büschen auf, die an seichten Gewässern stehen (Conant 1975).

Bombina orientalis (Chinesische Rotbauchunke) gehört neben fünf weiteren Arten zur Gattung *Bombina*. Diese Gattung wurde lange Zeit in die Familie der *Discoglossidae* gestellt. Neuere Studien (Cannatella 1985, Ford & Cannatella 1993) führten jedoch zu einer veränderten Nomenklatur, in der *Bombina* gemeinsam mit der Gattung *Barbourula* einer eigenen Familie, den *Bombinatoridae*, zugeordnet wird. Das Hauptverbreitungsgebiet von *Bombina orientalis* liegt in China und Korea. Die tag- und nachtaktiven Tiere leben in der Umgebung stehender oder leicht fließender Gewässer (Herrmann et al. 1987).

Die Untersuchungen wurden ausschließlich an Adulttieren durchgeführt. Da die Individuen beider verwendeten Arten ab einer Kopf-Rumpf-Länge von circa 35 mm Paarungsverhalten zeigten, galten sie ab dieser Körperlänge als adult. Es wurden jeweils Männchen und Weibchen für die Experimente herangezogen, wobei die Anzahl der männlichen Individuen bei *Hyla versicolor* deutlich überwog (90 % Männchen, 10 % Weibchen).

Die Individuen der Art *Hyla versicolor* wurden von der Firma Import/Export Peter Hoch, Waldkirch, bezogen. Die Individuen von *Bombina orientalis* stammten entweder aus der institutseigenen Zucht oder ebenfalls von der Firma Peter Hoch. Die Haltung erfolgte in Aquaterrarien mit einem Wasser- und einem Landteil mit Pflanzen (*Scindapsus spec.*), in denen jeweils fünf bis zehn Individuen gemeinsam lebten. Die Tiere waren einem 12-Stunden-Tag/Nacht-Rhythmus ausgesetzt. Die Individuen der Art *Hyla versicolor* wurden mit Lebendfutter in Form von Schmeißfliegen (*Calliphora spec.*) gefüttert, bei *Bombina orientalis* diente kleingeschnittenes Rinderherz als Nahrung.



Abb. 1: *Hyla versicolor*



Abb. 2: *Bombina orientalis*

2.2. Hirnpräparation

2.2.1. Anästhesie

Vor der Hirnisolierung wurden die Tiere einer Submersions-Anästhesie unterzogen, für die eine 0,2 %-ige Tricain-Methansulfonat-Lösung (MS 222, Sigma) in Leitungswasser verwendet wurde (Ohr 1976). Diese war mit Natriumhydrogencarbonat auf pH 7,4 gepuffert. Die Anästhesiezeit betrug für alle Versuchstiere 10 min, wodurch eine tiefe Anästhesie gewährleistet wurde. Im

Anschluss an die Submersions-Anästhesie wurde das Anästhetikum unter fließendem Leitungswasser gründlich von der Haut abgespült.

Danach wurden die Tiere mit einem feuchten Papiertuch umhüllt und für 10 min auf Eis gekühlt, wodurch die Körpertemperatur auf etwa 5 °C abgesenkt und so die Stoffwechselaktivität herabgesetzt wurde (Luksch et al. 1996).

2.2.2. Perfusion

Vor der Isolation des Gehirns erfolgte eine transcardiale Perfusion der Tiere mit eiskühlem Ringer. Die Perfusion diente dazu, die Blutgefäße von Erythrozyten zu befreien, da diese aufgrund ihres endogenen Peroxidasegehaltes bei der Nachweisreaktion (vgl. 2.5.4.3.) angefärbt worden wären und Teile der markierten Neuronen verdeckt hätten (Horikawa & Armstrong 1988). Für die Perfusion wurde Frosch-Ringer verwendet (Na^+ 100 mM, K^+ 2 mM, Ca^{2+} 2 mM, Mg^{2+} 0,5 mM, Cl^- 79,5 mM, HCO_3^- 25 mM, Glucose 11 mM), der durch Carbogenbegasung auf einen pH-Wert von 7,3 eingestellt war (Straka & Dieringer 1993).

2.2.3. Isolation des Gehirns

Die Präparation des Gehirns erfolgte von ventral. Zur Trennung der Schädelkapsel und der Wirbelsäule vom restlichen Körper wurde wie folgt geschnitten: beginnend bei den Mundwinkeln, dorsal der Vorderbeine durch den Schultergürtel, und an den Lateralseiten des Körpers bis zum Beckengürtel. Oberhalb dessen wurde abschließend die Wirbelsäule durchtrennt. Um ein Einbringen von Hautgiften und Resten des Betäubungsmittels zu vermeiden, wurde die verbleibende Kopfhaut weitgehend abpräpariert. Für die folgenden Präparationsschritte wurden der Schädel und die daran anschließende Wirbelsäule mit der dorsalen Seite nach unten auf einer Ringereisschicht in einer mit Silgat ausgegossenen Petrischale festgesteckt.

Die Präparation begann mit der Freilegung des Rückenmarks. Der Wirbelkanal wurde am ersten Wirbel eröffnet und die Wirbelkörper durch seitliche Schnittführung in caudaler Richtung durchtrennt. Nach Abheben der Ventralseite der Wirbelkörper war das Rückenmark frei zugänglich. Anschließend wurde in cranialer Richtung das Gehirn freigelegt. Für die Präparation des N. VIII wurde die Hörkapsel eröffnet. Sämtliche Äste des Nerven wurden vorsichtig durchtrennt, wobei der für die elektrophysiologischen Untersuchungen relevante Ramus posterior möglichst weit distal durchtrennt wurde. Bei der Präparation wurde sorgfältig darauf geachtet, die Nervenäste weder zu quetschen noch zu überdehnen. War bei den

elektrophysiologischen Experimenten auch eine Stimulation des N. II vorgesehen, wurde dieser Nerv ebenfalls sehr vorsichtig und möglichst weit distal durchtrennt. Schließlich wurden die übrigen Hirn- und Spinalnerven durchschnitten, so dass das Gehirn mit dem angrenzenden Rückenmark aus der Schädelkapsel und dem Wirbelkanal gehoben werden konnte.

Nach Überführung des Gehirns in ein mit eisgekühltem Ringer gefülltes Blockschälchen wurde die Dura mater mit Hilfe zweier Pinzetten vollständig entfernt, um die Diffusion von Glucose und Sauerstoff ins Gewebe zu erleichtern. Da die Pia mater eine Gewebepenetration der Elektroden spitze verhinderte, wurde sie über denjenigen Bereichen des Gehirns, in denen intra- oder extrazelluläre Ableitungen geplant waren, ebenfalls abgezogen.

Im Anschluss an die Präparation konnte das isolierte Hirnpräparat in oxygeniertem Ringer im Kühlschrank für mindestens eine Woche aufbewahrt werden, ohne dass die Funktionstüchtigkeit des Präparates beeinträchtigt war (Luksch et al. 1996). Um eine Beeinflussung der elektrophysiologischen Antworten durch das Betäubungsmittel auszuschließen, wurden elektrophysiologische Ableitungen erst am Folgetag der Präparation durchgeführt.

2.3. Versuchsdurchführung

2.3.1. Versuchsaapparatur

Die Ableitungen am isolierten Hirnpräparat fanden in einer Durchflussskammer aus Plexiglas statt (Luksch et al. 1996, modifiziert nach Schaffer 1982). Der Boden der Kammer war mit Silgat ausgegossen, so dass das Gehirn mit U-förmig gebogenen, rostfreien Minutiennadeln fixiert werden konnte. Die Kammer wurde mittels einer Peristaltikpumpe (Masterflex, 7518-60) permanent mit Ringer durchströmt (2-3 ml/min). Der Zuflussschlauch wurde zur Kühlung der Lösung durch ein Eisbad geführt. Die Temperatur in der Kammer, die über ein Thermometer kontrolliert wurde, konnte durch Änderungen der Pumpgeschwindigkeit auf einen gewünschten Wert reguliert werden. Bei den Experimenten wurde eine Temperatur von 16 °C eingestellt, da sich diese Temperatur bei *in vitro*-Präparationen für amphibisches Gewebe als optimal erwiesen hat (Straka & Dieringer 1993). Die Durchflussskammer war auf einem Kreutztisch montiert, der, relativ zur Ableitelektrode, in X- und Y-Richtung bewegt werden konnte.

Auf dem Kreutztisch waren ebenfalls die Befestigungsmöglichkeiten für vier Mikromanipulatoren (Märzhäuser) installiert, mit deren Hilfe die Stimulationselektroden positioniert werden konnten. Stimuliert wurden einzelne Nervenäste mit Hilfe von Saugelektroden (vgl. 2.3.2.). Zur Erzeugung der zur Elektrostimulation verwendeten rechteckigen Strompulse diente ein Stimulus-Isolator (Iso-Flex); die Amplitude des Strompulses konnte über einen Drehknopf variiert werden. Die Ansteuerung des Isolators erfolgte über einen Intervall-Generator (WPI, Digipulser Series 1830), der gleichzeitig zur Triggerung der Darstellung der Ableitspur am Computer diente. Über den Intervall-Generator konnten unterschiedliche Stimulationsparameter (Pulsdauer, Interstimulusintervall, einzelne oder repetitive Pulse, Pulswiederholungsrate) bestimmt werden.

Als Ableitelektroden dienten scharfe Glasmikroelektroden (vgl. 2.3.2.). Sie wurden in einen Elektrodenhalter (WPI) eingeführt, der an einen Elektrodenvorschub (Eigenbau des Institutes) montiert wurde. Dieser ermöglichte eine senkrechte Bewegung der Elektrode, die kontinuierlich oder in definierten Schritten (minimale Schrittgröße 0,5 μm) erfolgen konnte. Die dabei zurückgelegte Strecke wurde mit Hilfe eines angeschlossenen Zählers (Eigenbau) registriert. Eine waagerechte Positionierung der Ableitelektrode erfolgte durch ein Verschieben der auf dem Kreutztisch fest montierten Ableitkammer relativ zur Elektrode. Über den Elektrodenhalter war die Ableitelektrode direkt mit dem Messkopf des Intrazellulärverstärkers (WPI, Cyto 721) verbunden. Die mittels der Ableitelektrode registrierten Potentiale wurden über den Intrazellulärverstärker impedanzgewandelt. Anschließend wurden sie an ein Oszilloskop (Philips, PM 3335) und nach 10facher Verstärkung an einen weiteren Verstärker (Heineke, Seewiesen) weitergeleitet. Die Oszilloskopdarstellung diente im Wesentlichen der Darstellung des Spannungssprungs bei der Zellpenetration und der Überwachung des Membranpotentials bei intrazellulären Ableitungen. Der zweite Verstärker erlaubte eine stufenweise Verstärkung des Signals (maximaler Verstärkungsfaktor 1000fach). Vom Ausgang des Verstärkers wurde das Signal über einen A/D-Wandler (Instrutech, CRC VR-100A Digital Recorder) einem Auswertrechner (PC), sowie einem VHS-Videorekorder (JVC) zugeführt. Zur akustischen Kontrolle des Signals diente ein Lautsprecher, der an den Intrazellulärverstärker angeschlossen war. Die Aufzeichnung der Signale erfolgte auf einem Videoband und auf dem Messrechner. Für die Computeraufzeichnung wurde zum einen das von Wolfgang Walkowiak entwickelte Programm (VR 100) verwendet, zum anderen das Programm DasyLab 32 (Datalog, V 5.5), für dessen Anwendung der Rechner eine DAP 2400a/6-Karte (Microstar Laboratories, Inc.) enthielt. Die

Abbildung der elektrophysiologischen Antworten auf einen Stimulus war getriggert. Die Triggerung erfolgte über den Intervall-Generator, der über den A/D-Wandler mit dem Computer verbunden war.

Zur elektrischen Abschirmung waren der Kreutztisch mit der darauf befestigten Ableitkammer und den Stimulationselektroden sowie der Elektrodenvorschub mit dem Messkopf des Vorverstärkers von einem Faradaykäfig umgeben. Eine visuelle Kontrolle der Elektrodenpositionierung war anhand eines Binokulars (Zeiss) gewährleistet. Dieses war, unabhängig vom Kreutztisch, auf einem schwingungsgedämpften Tisch befestigt.

Abb. 3 zeigt die Ableitsituation in der Durchflussskammer, in Abb. 4 ist das schematische Schaltbild der Versuchsanlage dargestellt.

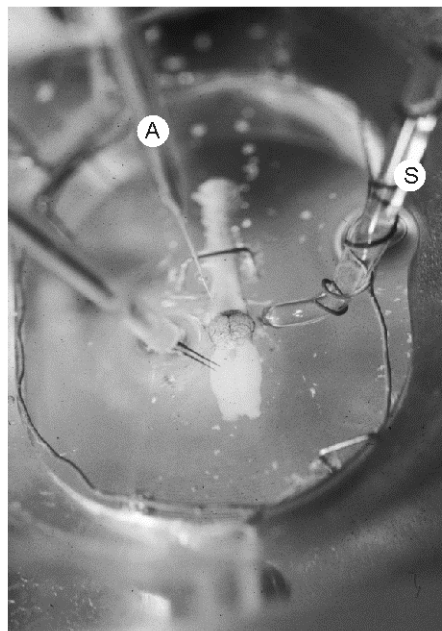


Abb. 3: Ableitkammer für die in vitro-Untersuchungen. Abgebildet ist die Ableitkammer mit dem darin fixierten in vitro-Ganzhirnpräparat und der Ableit- (A) bzw. Stimulationselektrode (S).

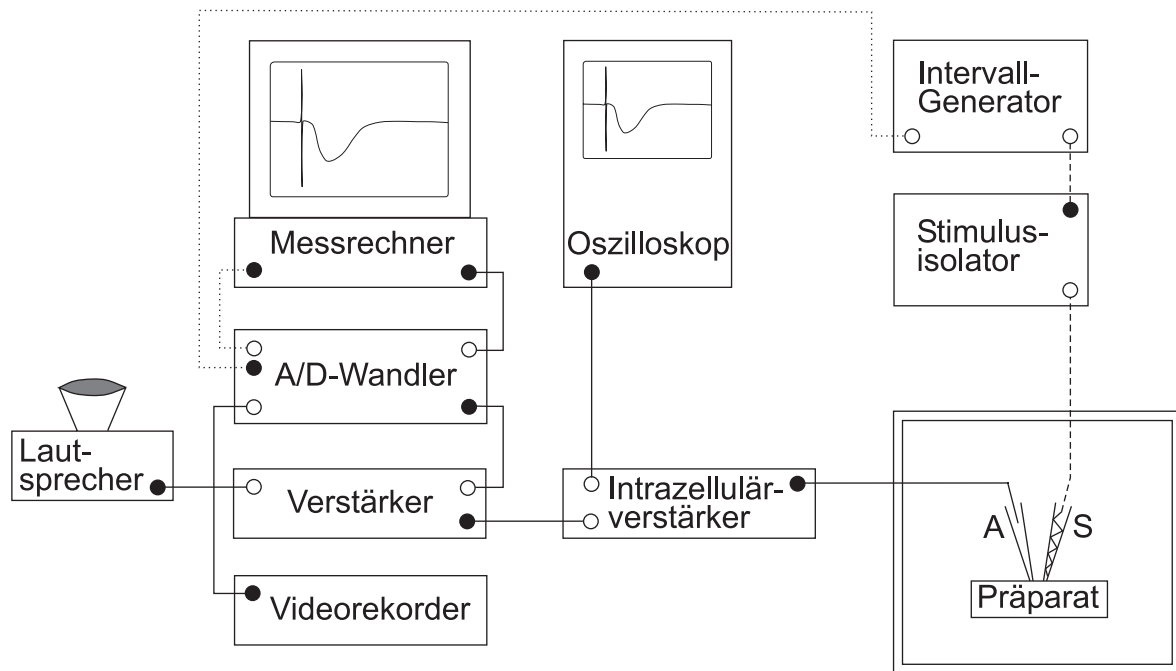


Abb.4: Schematisches Schaltbild der Versuchsanordnung. ○ = Ausgang, ● = Eingang, — = Datenleitung, = Triggerleitung, - - - - = Stimulationsleitung, A = Ableit-elektrode, S = Stimulationselektrode

2.3.2. Ableit- und Stimulationselektroden

2.3.2.1. Ableitelektroden

Für die elektrophysiologischen Ableitungen wurden scharfe Glasmikroelektroden verwendet. Sie wurden mit einem Micropipetten-Puller (Sutter Instruments Co., Flaming/Brown, Modell P-87) aus Borosilicatglaskapillaren mit Filament (Hilgenberg, Länge 70 mm, Außendurchmesser 1,5 mm, Innendurchmesser 0,87 mm, Filament 0,2 mm) gezogen.

Die extrazellulären Ableitelektroden wurden luftblasenfrei mit einer 3 M Natriumacetat-Lösung gefüllt. Falls im Anschluss an die Ableitungen ein Tracingexperiment vorgesehen war, wurde eine 10 %-ige Neurobiotin-Lösung in 0,3 M Natriumacetat verwendet. Der Elektrodenhalter enthielt eine reine Natriumacetat-Lösung mit einer der Elektrodenfüllung entsprechenden Molarität. Die Spitzen der Extrazellulärelektroden wurden vor der Untersuchung heruntergebrochen. Die Impedanz der mit 3 M Natriumacetat-Lösung gefüllten

Elektroden betrug nach dem Herunterbrechen 3 - 6 M Ω und bei den mit der Neurobiotin-Lösung gefüllten Elektroden 6 - 15 M Ω .

Die intrazellulären Ableitelektroden wurden mit einer 2 M Kaliumacetat-Lösung gefüllt. Falls ein Neuron im Anschluss an die Intrazellulärableitung markiert werden sollte, wurde eine 3 %-ige Neurobiotin-Lösung in 0,3 M Kaliumacetat-Lösung verwendet. Zur Füllung des Elektrodenhalters diente eine reine Kaliumacetat-Lösung entsprechender Molarität. Die Impedanz der verwendeten Intrazellulärelektroden lag im Bereich von 60 - 150 M Ω . Bei den Neurobiotin-Elektroden betrug die Impedanz 80 - 230 M Ω .

2.3.2.2. Stimulationselektroden

Als Stimulationselektroden am Ramus posterior des N. VIII bzw. am N. II dienten Saugelektroden aus Glas. Für deren Herstellung wurden Pasteurpipetten durch Feuerpolieren leicht gekrümmt und auf einen passenden Öffnungsdurchmesser geschmolzen. In die Saugelektroden wurde ein chlorierter Silberdraht (Plano) mit einem Durchmesser von 0,25 mm eingeführt, ein zweiter Silberdraht wurde von außen bis zur Spitze um die Elektrode gewickelt. Beide Drähte wurden am oberen Ende mit Kabeln verlötet, die für die elektrische Stimulation mit der Reizisoliereinheit verbunden wurden (vgl. 2.3.1.). Die obere Öffnung der Saugelektrode wurde über ein Stück Schlauch mit einem Dreiwegehahn verbunden, an den über einen weiteren Schlauch eine Injektionsspritze angeschlossen war. Die Saugelektroden wurden vor dem Versuchsbeginn mittels der Mikromanipulatoren so positioniert, dass ihre Öffnung unmittelbar vor dem Ende des N. VIII oder des N. II lag. Mit Hilfe der Spritze konnte dann ein Unterdruck in der Saugelektrode erzeugt werden, wodurch Ringerlösung aus der Kammer und der Nervenast in sie eingezogen wurden. Die ausreichende Isolierung der Nervenäste konnte durch die Verwendung unterschiedlicher Spitzendurchmesser erreicht werden, leitender Kontakt zu den chlorierten Silberdrähten wurde durch die Ringerlösung gewährleistet.

2.3.3. Allgemeiner Versuchsablauf

Um eine bessere Übersichtlichkeit zu gewährleisten wird an dieser Stelle nur der allgemeine Versuchsablauf beschrieben. Detaillierte Angaben zu den jeweiligen Versuchsbedingungen der physiologischen und anatomischen Studien finden sich in Kap. 2.4. bzw. 2.5..

Das isolierte Hirnpräparat wurde so in der Kammer fixiert, dass, je nach der geplanten Ableitung, die dorsale oder die ventrale Seite von oben frei zugänglich war. Bei Ableitungen im Thalamus war in der Regel die dorsale Seite nach oben ausgerichtet, bei Ableitungen im Striatum die ventrale Seite. Bezogen auf den Ableitort wurden jeweils die contralaterale N. VIII und N. II in die Stimulationselektroden eingezogen (vgl. 2.3.2.2.). Zur Stimulation dienten rechteckförmige Spannungspulse von 200 μ s Dauer. Diese Stimulusdauer hatte sich als geeignet erwiesen, um konstante Antworten ohne übermäßige Gewebebelastung zu erhalten (Luksch 1994). Die Amplitude der Stimuli wurde so eingestellt, dass sie gerade über dem Wert lag, bei der eine maximale Amplitude der elektrophysiologischen Antwort registriert werden konnte; die Werte lagen zwischen 7 und 13 V. Die Einstellung der übrigen Stimulationsparameter (Interstimulusintervall, Pulsart, Frequenz) erfolgte, je nach Art des durchgeführten Experimentes, wie in Kap. 2.4.1. und Kap. 2.4.2. beschrieben.

Anschließend wurde der Kreutztisch derart in X/Y-Richtung verschoben, dass sich der Ableitort unterhalb der am Elektrodevorschub befestigten Ableitelektrode befand. Die Ableitelektrode wurde zunächst bis in die Badlösung abgesenkt. Über einen Brückenabgleich des Intrazellulärverstärkers wurde die Elektrodenimpedanz kompensiert. Dann wurde die Elektrode in 10 μ m großen Schritten weiter abgesenkt, bis sie auf dem Gewebe aufsetzte. Das Aufsetzen konnte sowohl auf dem Monitor anhand eines Potentialsprungs als auch akustisch wahrgenommen werden. Das Aufsetzen der Elektrode auf das Gewebe wurde als Nullpunkt der Eindringtiefe in das Gewebe definiert. Die bei dem weiteren Eindringen in das Gewebe zurückgelegte Strecke wurde mittels des Zählers des Elektrodevorschubs registriert. Das Vorschieben der Elektrode und die Zellpenetration erfolgten wie in Kap. 2.4.1. und Kap. 2.4.2. beschrieben.

Die registrierte Potentialdifferenz wurde stimulationsgetriggert auf dem Computerbildschirm dargestellt und gegebenenfalls auf der Festplatte des Messrechners gespeichert. Zusätzlich wurde die gesamte Ableitung kontinuierlich auf Videoband aufgezeichnet.

2.4. Extrazellulär- und Intrazellulärableitungen

2.4.1. Extrazellulärableitungen

Im Rahmen der Arbeit sollte u. a. geklärt werden, wie diejenigen thalamischen Kerne, die auditorischen Eingang erhalten, mit telencephalen Kerngebieten verbunden sind. Zu diesem Zweck wurde eine elektrophysiologische Kartierung des Diencephalon von *Hyla versicolor* mit extrazellulären Tracingstudien kombiniert.

Mit Hilfe der Kartierung wurde ermittelt, welche thalamischen Kerne an der Verarbeitung auditorischer Signale beteiligt sind. Es wurden extrazelluläre Ableitungen an definierten Ableitorten des Diencephalon durchgeführt, während der Ramus posterior des N. VIII elektrisch stimuliert wurde. Der Einstich der Elektroden erfolgte von dorsal und wurde anhand von gut sichtbaren Landmarken ausgerichtet. So bildete beispielsweise das caudale Ende der Fissura sagittalis die rostrale Landmarke. Weitere Orientierungspunkte waren der Ventriculus tertius und der Übergang des Diencephalon in das Tectum opticum auf Höhe der Medianlinie.

Die Einstichorte a bis h lagen auf zwei Linien, die in einem Abstand von 300 µm bzw. 600 µm parallel zur Medianlinie des Gehirns verliefen, in rostro-caudaler Richtung lagen die Einstichorte jeweils 200 µm auseinander. Abb. 5 zeigt schematisch die Ableitsituation.

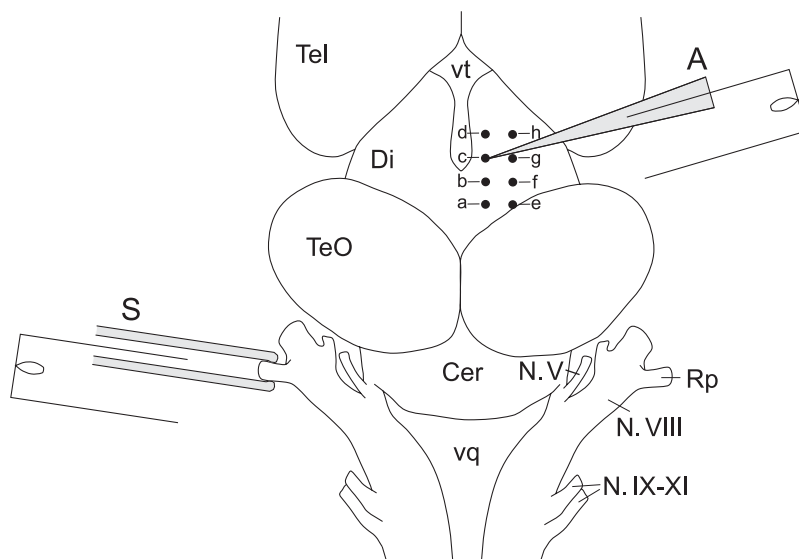


Abb. 5: Schematische Darstellung der Ableitsituation während der Kartierung des Diencephalon von *Hyla versicolor*. Die Punkte zeigen die Lage der Einstichorte a bis h der Ableitelektrode (A) im dorsalen Diencephalon. Der Ramus posterior (Rp) des contralateralen N. VIII wird mit Hilfe der Saugelektrode (S) elektrisch stimuliert. Für Abkürzungen siehe Liste am Ende der Arbeit.

Nach dem Aufsetzen wurde die Elektrode in 10 μm Schritten vorgeschoben. Jeweils nach 100 μm wurden die durch eine Stimulation des N. VIII evozierten Potentiale (EPs) registriert. Pro Stimulationsparameter wurden zehn aufeinander folgende Ableitungen gespeichert, die für die Auswertung der Daten im Computer gemittelt wurden, um das Signal-Rausch-Verhältnis zu verbessern. Als Standardstimulus diente bei den Registrierungen im Diencephalon ein einfacher Puls (200 μs Dauer). Da Vorexperimente zeigten, dass die Neuronen der verschiedenen thalamischen Kerne stark habituieren, wurde bei den Kartierungen ein Interstimulusintervall von 30 s eingehalten.

Im Anschluss an eine Kartierung wurde ein neuronaler Marker im Bereich der maximalen auditorischen Aktivität appliziert, um die efferenten und afferenten Verbindungen der umgebenden Neuronen zu untersuchen (vgl. 2.5.2.). Der Applikationsort des Markers diente gleichzeitig als Orientierungspunkt für die Rekonstruktion der Ableitorte einer Kartierung. So konnte nach der Aufarbeitung des Gehirns (vgl. 2.5.4.) anhand der Lage des Applikationsortes die genaue Lage der anderen Ableitorte bestimmt werden.

Eine entsprechende Kartierung wurde im Striatum durchgeführt. Die Einstichorte lagen auf einer Linie in 750 μm Entfernung von der Medianlinie, sie waren in rostrocaudaler Richtung jeweils 200 μm voneinander entfernt. Nach dem Einstich wurde die Elektrode in 10 μm -Schritten vorgeschoben. Jeweils nach 100 μm wurden EPs als Antwort auf eine Stimulation des N. VIII aufgezeichnet. Als Landmarken dienten in diesem Fall das Chiasma opticum und die Fissura sagittalis als mediale Unterteilung der telencephalen Hemisphären. Bei einigen Extrazellulärableitungen im Striatum von *Bombina orientalis* wurde zusätzlich zum N. VIII der N. II elektrisch stimuliert. Bei *Hyla versicolor* diente als Standardstimulus am N. VIII eine Pulsreihe von 5 Pulsen (jeweils 200 μs Dauer, 40 Hz, 50 s Interstimulusintervall). Bei *Bombina orientalis* diente als Standardstimulus am N. VIII und am N. II jeweils ein einfacher Puls (200 μs Dauer, 50 s Interstimulusintervall).

2.4.2. Intrazellulärableitungen

Um die elektrophysiologischen Antwortigenschaften einzelner Neuronen auf auditorische oder visuelle Reizung zu untersuchen, wurden Intrazellulärableitungen im Striatum durchgeführt.

Die Ableitelektrode wurde nach dem Aufsetzen auf das Gewebe (vgl. 2.3.3.) in 10 μm Schritten bis an die Grenze des Kerngebietes vorgeschoben. Innerhalb des

Kerngebietes erfolgte der Vorschub in 3-5 μm Schritten. Nach 1-5 Schritten wurde die Tickle-Funktion (Kapazitätsüberkompensation) des Intrazellulärverstärkers betätigt, um das Penetrieren der Zellmembran zu erleichtern. Ein plötzlicher Potentialsprung, der auf dem Oszilloskop beobachtet werden konnte, wurde als Indiz für eine erfolgreiche Zellpenetration gewertet. Wenn sich die Ableitung als stabil erwies und eine Antwort auf eine Stimulation zu beobachten war, wurde mit der Registrierung begonnen. Falls die Elektrode mit dem Marker gefüllt war, konnte im Anschluss an eine erfolgreiche Registrierung eine Füllung des Neurons vorgenommen werden (vgl. 2.5.3.).

Die Stimulation erfolgte am N. VIII bzw. am N. II (Standardstimuli wie in Kap. 2.4.1. angegeben). Um sicher zu stellen, dass beide Nerven intakt waren, wurde vor Beginn der Intrazellulärableitungen eine Kontrollableitung mit einer Extrazellulärelektrode durchgeführt. Wurden bei den Extrazellulärableitungen EPs als Antwort auf einen elektrischen Stimulus der Nerven registriert, wurde mit den Intrazellulärableitungen begonnen.

2.5. Tracingstudien und Einzelzellanfärbungen

2.5.1. Verwendeter Marker

Sowohl bei den extrazellulären Tracingstudien als auch bei intrazellulären Einzelzellanfärbungen wurde in den vorliegenden Studien das Biotin-Derivat Neurobiotin (N-(2-aminoethyl)biotinamid-hydrochlorid, Molecular Probes) als neuronaler Marker verwendet.

Mit einem Molekulargewicht von 286 Da handelt es sich bei Neurobiotin um ein relativ kleines Molekül. Dies gewährleistet eine schnelle Diffusion des Markers in der Zelle und die Markierung auch sehr feiner Fortsätze in großer Entfernung vom Applikationsort. Neurobiotin wird sowohl anterograd als auch retrograd in den Neuronen transportiert (Kita & Armstrong 1991).

Für eine intrazelluläre Applikation von Neurobiotin werden allgemein scharfe Glasmikroelektroden verwendet, die mit einer Neurobiotin-Lösung gefüllt sind. Aus der Elektrode kann der Marker selektiv durch einen positiven Strom ausgetrieben werden. Neurobiotin zeigt eine sehr gute Löslichkeit auch in hoch konzentrierten Elektrolytlösungen, so dass Elektroden mit einem relativ hohen Widerstand hergestellt werden können, die eine Kombination der Markerapplikation mit

elektrophysiologischen Ableitungen erlauben (Kita & Armstrong 1991). Extrazellulär kann Neurobiotin kristallin oder in gelöster Form über eine Druckinjektion bzw. durch Iontophorese appliziert werden (Huang et al. 1992; Lapper & Bolam 1991; Barnes et al. 1994; Kita & Armstrong 1991).

Die Biotinkomponente von Neurobiotin weist eine hohe Avidin-Affinität auf. Diese Eigenschaft erlaubt den Gebrauch einer Reihe sehr sensibler und vergleichsweise einfach durchzuführender Nachweismethoden. Dabei können beispielsweise Avidin-gekoppelte Fluoreszenzmarker zum Einsatz kommen, welche die Kombination von Tracingstudien mit immunohistochemischen Untersuchungen ermöglichen. Diese Präparate sind jedoch nicht lichtbeständig. Der in der vorliegenden Arbeit angewandte Avidin-HRP-Diaminobenzidin-Nachweis erlaubte hingegen die Herstellung dauerhaft haltbarer Präparate, die unter dem Lichtmikroskop bzw. unter dem Elektronenmikroskop ausgewertet werden konnten (Kita & Armstrong 1991).

2.5.2. Extrazelluläre Tracingstudien

Für die Untersuchung der Konnektivität verschiedener Kerngebiete im Di- und Telencephalon wurden Tracingstudien durchgeführt. Der Tracer Neurobiotin wurde iontophoretisch appliziert. Die Stärke des positiven Applikationsstroms lag bei dem überwiegenden Anteil der durchgeführten Experimente zwischen 150 und 200 nA, bei zwei Experimenten betrug er 25 nA. Als Stromquelle diente die Iontophoreseeinheit des Intrazellulärverstärkers, der tatsächliche Stromfluss wurde mit einem Strommessgerät am „Current monitor“-Ausgang des Intrazellulärverstärkers kontrolliert. Die Applikationszeit betrug 30 min.

Nach der Tracerapplikation wurde das Gehirn für 12 - 48 h in Frosch-Ringer im Kühlschrank aufbewahrt. Damit wurde eine ausreichende Zeit für den anterograden und retrograden Transport des Tracers bis in alle Ausläufer der Neuronen gewährleistet. Anschließend erfolgte die Aufarbeitung des Präparates wie unter Kap. 2.5.4. beschrieben.

Da Neurobiotin sowohl anterograd als auch retrograd transportiert wird (vgl. 2.5.1.), lassen sich bei einer extrazellulären Tracerapplikation sowohl die Efferenzen als auch die Afferenzen der Neuronen des Applikationsgebietes ermitteln. So wird Neurobiotin zum einen von denjenigen Neuronen aufgenommen, deren Somata in der unmittelbaren Nähe des Applikationsortes liegen und über deren Axone der Tracer anterograd bis in die axonalen Terminalien transportiert wird (efferente Projektionen). Zum anderen werden durch den Tracer Neuronen markiert, deren

Axone im Bereich des Applikationsortes terminieren und in deren Somata der Tracer retrograd transportiert wird (afferente Projektionen). Bei der Interpretation solcher Tracingstudien ist zu beachten, dass prinzipiell auch solche Axone den Tracer aufnehmen können, die nicht im Applikationsgebiet terminieren, sondern nur hindurch ziehen (Fibers of Passage). Weiterhin ist zu beachten, dass auch die Axone der retrograd markierten Neuronen den Marker aufnehmen. Das bedeutet, dass axonale Verzweigungen retrograd markierter Neuronen und anterograd markierte Terminalien nicht unterschieden werden können, was zu einer Fehlinterpretation der Befunde führen kann. Um eine eindeutige Aussage über die Efferenzen und Afferenzen einer Neuronenpopulation zu erhalten, ist es daher erforderlich, reziproke Applikationen in denjenigen Kerngebieten durchzuführen, deren Konnektivität untersucht werden soll. Erst wenn Kontrollapplikationen die Tracingstudien in einem bestimmten Kerngebiet bestätigen, kann eine sichere Aussage über die Verschaltungen der beiden Gebiete gemacht werden.

In der vorliegenden Arbeit wurden Tracingstudien in verschiedenen thalamischen Kernen, im Striatum, im Septum laterale und im Septum mediale durchgeführt. Zur Beurteilung der Verschaltungen dieser Kerngebiete untereinander konnten die Tracingstudien gegenseitig als Kontrollapplikationen herangezogen werden. Zusätzliche Kontrollapplikationen wurden im Pallium mediale, in der Area praeoptica anterior, im posterioren Tuberculum und im Torus semicircularis durchgeführt.

Im Diencephalon wurde eine Tracerapplikation in der Regel im Anschluss an eine extrazelluläre Kartierung (vgl. 2.4.1.) durchgeführt. Dabei wurde der Tracer jeweils an der Stelle des zu untersuchenden thalamischen Kerngebietes appliziert, an der eine maximale Amplitude als Antwort auf eine Stimulation des N. VIII registriert wurde. Es wurde angenommen, dass sich an diesen Stellen Neuronen konzentrieren, die an der Verarbeitung auditorischer Signale beteiligt sind. Anhand der Tracerapplikationen sollte ermittelt werden, welche afferenten und efferenten Verbindungen diese Neuronen mit dem Striatum bzw. den septalen Kernen haben. Elektrophysiologische Studien hatten gezeigt, dass diese Kerngebiete an der Verarbeitung auditorischer Signale beteiligt sind (vgl. 1.2.). Es gab jedoch keine Erkenntnisse darüber, welche Bereiche dieser Kerngebiete auditorische Eingänge erhalten. Mit Hilfe der Tracingstudien sollte ermittelt werden, ob es innerhalb des Striatum bzw. der septalen Kerne der Anuren bestimmte Subareale gibt, in denen die Axone auditorischer Neuronen des Thalamus verstärkt terminieren.

2.5.3. Intrazelluläre Einzelzellanfärbungen

Im Anschluss an eine erfolgreiche Intrazellulärableitung (vgl. 2.4.2.) wurden einige Zellen mit dem Marker Neurobiotin gefüllt. Die Markierung erlaubte eine Identifizierung der physiologisch charakterisierten Neuronen und eine Untersuchung ihrer Anatomie und der axonalen Projektionen. Wegen der komplexen und weitläufigen Projektionen der markierten Neuronen wurde pro Gehirn nur ein Neuron gefüllt.

Die Füllung erfolgte iontophoretisch mittels eines dreiminütigen positiven Stromes von 3 nA. Im Anschluss an die Füllung wurde das Gehirn für ca. 48 h in Frosch-Ringer im Kühlschrank aufbewahrt, damit der Marker in alle axonalen Projektionen, die sich zum Teil über eine Strecke von über 8 mm erstreckten, transportiert werden konnte. Die Aufarbeitung des Präparates erfolgte wie in Kap. 2.5.4. beschrieben.

2.5.4. Aufarbeitung der Präparate

2.5.4.1. Fixierung

Im Anschluss an die Inkubationszeit in Frosch-Ringer wurde das Gehirn in eine Fixativlösung überführt. Diese Lösung bestand aus 4 % Paraformaldehyd (Serva) und 1,25 % Glutaraldehyd (Serva) in 0,1 M Phosphatpuffer (pH 7,4). Die Fixierung erfolgte über Nacht im Kühlschrank (6 - 8 °C). Um überschüssige Fixativlösung zu entfernen, wurde das Gehirn anschließend dreimal je 1 h in 0,1 M Phosphatpuffer gewaschen.

2.5.4.2. Schneiden

Vor dem eigentlichen Schneidevorgang wurde das Gehirn in Agar eingebettet. Für die Herstellung des Einbettmediums wurde 4 % Agar (Merck) in 0,1 M Phosphatpuffer aufgekocht und nach kurzer Abkühlung in eine Eismürfelform gegossen. Das fixierte Gehirn wurde in der zähflüssigen Agarmasse senkrecht ausgerichtet, anschließend ließ man den Agarblock im Kühlschrank für etwa 15 min aushärten. Danach wurde er mit einer Rasierklinge auf eine Grundfläche von 0,5 cm² und eine Höhe von 1 cm getrimmt. Dieser Block wurde mit Sekundenkleber auf dem Boden eines Vibratomtisches (D.S.K. Microslicer, DTK-3000) festgeklebt. Der Schneidepuffer (0,1 M Phosphatpuffer) wurde während des Schneidevorgangs von unten mit Eis gekühlt, wodurch eine bessere Stabilisierung des Agarblocks

gewährleistet wurde. Die Schnittdicke war auf 50 µm eingestellt. Die Schnitte wurden mit einem Pinsel aufgefangen und auf Objektträger aufgezogen, die mit 0,05 % Chromalaun und 0,5 % Gelatine beschichtet waren. Durch das anschließende Trocknen der Objektträger auf einer Wärmeplatte (1 h, 40 °C) gingen die in den Agar eingebetteten Schnitte eine Verbindung mit der Beschichtung ein und hafteten fest auf dem Objektträger.

2.5.4.3. Nachweisreaktion

Vor der eigentlichen Nachweisreaktion wurden die Schnitte über Nacht mit einer Lösung von 0,5 % Triton X-100 (Serva) und 2 % Streptavidin, gekoppelt an Meerrettichperoxidase (HRP, Amersham Life Science) in 0,1 M Phosphatpuffer inkubiert. Das Detergens Triton X-100 machte die Zellmembranen porös und damit durchlässig für das Nachweisreagens. Dieses besitzt eine hohe Affinität zu Biotin und lagerte sich daher an die Biotinkomponente des Markers in den zuvor gefüllten Zellen an. Um ein Abfließen des Inkubationsmittels zu verhindern, wurden die Objektträger mit einer hydrophoben Flüssigkeit (Pap-Pen, SCI Science Services) umrandet.

Um überschüssige Reste des Inkubationsmittels zu entfernen, wurden die Objektträger am nächsten Tag zunächst dreimal je 10 min in 0,1 M Phosphatpuffer gewaschen. Unter dem Abzug wurde eine Lösung aus 1,64 g Natriumacetat, 5 g Ammonium-Nickel-Sulfat, 80 mg Kobalt(II)-Chlorid, 80 mg Ammoniumchlorid und 4 mg Glucoseoxidase (Sigma) in 100 ml H₂O dest. hergestellt. In einem zweiten Lösungsansatz wurden 100 mg DAB (3,3-Diaminobenzidin-4-Hydrochlorid, 0,05 %, Serva) in 100 ml H₂O dest. gelöst. Die Lösungen wurden vermischt und nach Zugabe von 400 mg D(+)-Glucose-Monohydrat vorsichtig über die auf dem Boden einer Glaswanne liegenden Objektträger gegossen. Der Farbnachweis fand nach der Glucoseoxidase-Diaminobenzidin-Nickel-Methode (Shu et al. 1988) statt. Die Glucoseoxidase katalysierte die Oxidation von Glucose, bei dieser Reaktion wurde Wasserstoffperoxyd freigesetzt. Letzteres oxidierte unter Katalyse des Enzyms HRP das Chromogen Diaminobenzidin (DAB), wodurch es zu einer braun-schwarzen Färbung kam. Die zugesetzten Schwermetalle führten zu einer Intensivierung der Schwärzung (Adams 1981). Der Verlauf der Färbung wurde unter dem Binokular kontrolliert, um eine zu starke Hintergrundfärbung zu verhindern. Die Reaktion wurde durch eine Überführung der Objektträger in 0,1 M Phosphatpuffer gestoppt.

Nach drei Waschschritten in Phosphatpuffer verlief die Entwässerung in einer aufsteigenden Alkoholreihe (40 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 96 % und 100 %

Ethanol) für je 6 min sowie Isopropanol für 10 min und Xylol für zweimal 10 min. Zum Schluss wurden die Objektträger mit Corbitbalsam (Hecht) eingedeckelt.

2.6. Auswertung

2.6.1. Physiologische Befunde

2.6.1.1. Extrazellulärableitungen

Bei den Extrazellulärableitungen wurden die Latenz, der Zeitpunkt des Amplitudenmaximums, die Dauer und die Amplitude der EPs bestimmt. Die Auswertung erfolgte mit den bereits bei der Datenaufzeichnung verwendeten Programmen (vgl. 2.3.1.), mit deren Hilfe die gemittelten Ableitspuren dargestellt und vermessen werden konnten.

Als Latenz galt die Zeitspanne zwischen Stimulusbeginn und dem Beginn der EPs. Für die Angabe der Dauer wurde die Zeitspanne zwischen dem Antwortbeginn und demjenigen Zeitpunkt angegeben, an dem das Potential wieder den Ausgangswert vor der Stimulation (Nulllinie) erreichte. Die maximalen Amplituden der EPs wurden von der Nulllinie ausgehend bestimmt. Der Zeitpunkt des Amplitudenmaximums entsprach der Zeitspanne zwischen Stimulusbeginn und demjenigen Zeitpunkt, an dem die maximale Amplitude erreicht wurde.

2.6.1.2. Intrazellulärableitungen

Bei den Intrazellulärableitungen wurde die Latenz und die Dauer der Gesamtantwort entsprechend Kap. 2.6.1.1. bestimmt. Die Latenzen und Dauern der intrazellulären Antworten eines Neurons waren bei einem bestimmten Stimulus in der Regel konstant und konnten daher mit Hilfe der gemittelten Ableitspuren bestimmt werden. Falls die Werte stark variierten, wurden die Ableitspuren einzeln ausgewertet und ein Mittelwert gebildet.

Einige Antworten zeigten Kombinationen aus inhibitorischen und exzitatorischen Anteilen. Bei diesen Antworten wurden die Latenzen und Dauern der unterschiedlichen Anteile getrennt bestimmt. Als Latenz galt auch hier die Zeit zwischen Stimulusbeginn und dem Beginn des exzitatorischen bzw. inhibitorischen Anteils der Antwort, die Dauer der Anteile wurden entsprechend Abb. 6 bestimmt.

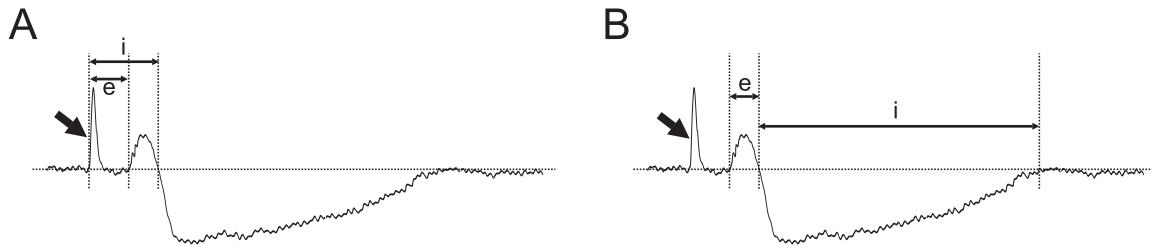


Abb. 6: Beispiel für die Bestimmung der Latenz (A) und der Dauer (B) exzitatorischer (e) und inhibitorischer (i) Anteile einer intrazellulären Antwort.

2.6.1.3. Statistische Analyse

Die statistische Analyse der Daten erfolgte mit der Tabellenkalkulationssoftware Sigma Stat V 2.03 (SPSS Science) und Excel 2002 (Microsoft). Aus den Einzelwerten der unterschiedlichen Versuchsansätze wurden Mittelwerte berechnet. Bei einem Vergleich zweier Wertegruppen wurde der Standardfehler ermittelt, in den übrigen Fällen wurde die Standardabweichung angegeben. Für den Vergleich zweier Wertegruppen wurden bei Erfüllung der Kriterien gleicher Varianz und Normalverteilung der t-Test von Student herangezogen. Bei Nichterfüllung eines der Kriterien kam der Mann-Whitney Rank Sum Test (U-Test) zur Anwendung. In beiden Fällen lieferten die Tests die Wahrscheinlichkeit (p) für den α -Fehler, d.h. dafür, dass die Annahme eines signifikanten Unterschieds falsch war (Kreyszig 1982; Sachs 1984). War $p > 0,05$ galt der Unterschied als nicht-signifikant (n.s.). In den übrigen Fällen wurde der p -Wert in Tabellen angegeben oder in Abbildungen durch einen Stern gekennzeichnet.

2.6.2. Anatomische Befunde

2.6.2.1. Mikroskop

Die Schnitte mit den markierten Zellstrukturen wurden unter dem Lichtmikroskop (Leica DM LB) bei 100 - 400facher Vergrößerung analysiert. Auf dem Fotostutzen des Mikroskops war eine Digitalkamera (Pixera) installiert, mit deren Hilfe einzelne Schnitte abfotografiert werden konnten. Ein am Mikroskop befestigter Zeichentubus erlaubte die zeichnerische Erfassung markierter neuronaler Strukturen. Das Ausmessen der Somata, Dendriten und Axone erfolgte mit Hilfe eines Objektmikrometers (0,01 mm, Wild Heerbrugg).

2.6.2.2. Nomenklatur

Die in der vorliegenden Arbeit verwendete Nomenklatur bezieht sich für das Telencephalon auf Northcutt & Kicliter (1980), für das Diencephalon auf Neary und Northcutt (1983) und für alle weiteren Gehirnabschnitte auf Ten Donkelaar (1998a). Die verwendeten Abkürzungen sind am Ende der Arbeit aufgeführt.

Da die Lage des Nucleus accumbens anhand von immunohistochemischen Färbungen in der aktuellen Literatur bei *Rana perezi* und *Xenopus laevis* neu definiert wurde (Marín et al. 1998d), wurden die Grenzen dieses Kerngebietes mit Hilfe von Tyrosin-Hydroxylase-Immunfärbungen für die hier verwendeten Arten festgelegt (Endepols, persönliche Mitteilung). Bei der Lage der amygdalären Kerngebiete wurden ebenfalls neuere Forschungsergebnisse von Gerhard Roth, Universität Bremen (persönliche Mitteilung) berücksichtigt, nach denen bei Anuren eine mediale, laterale und centrale Amygdala unterschieden werden kann.

2.6.2.3. Tracingstudien

Bei den Tracingstudien wurde die Verteilung von retrograd gefüllten Somata und anterograd gefüllten axonalen Terminalien im Gehirn beurteilt. Die Lage und Ausdehnung der einzelnen Kerngebiete im Gehirn konnte mit Hilfe des Phasenkontrastes des Mikroskops sichtbar gemacht werden, wodurch auf eine Gegenfärbung zur Sichtbarmachung der Neuronen verzichtet werden konnte.

Einzelne Schnitte wurden mittels der Digitalkamera abfotografiert. Zusätzlich wurden Schemata repräsentativer Querschnitte des Gehirns angefertigt, die alle wichtigen Bereiche, in denen angefärbte Strukturen zu finden waren, abdeckten. Dafür wurden Transversalschnitte eines Gehirnes, bei dem die Somata mit Hilfe einer Nissl-Färbung (Schnell-Nissl-Methode, Burck 1988, die Präparate wurden im Institut von Ingrid Markus hergestellt) sichtbar gemacht waren, mittels der Digitalkamera abfotografiert. Anschließend wurden die Digitalfotografien in Corel Photo-Paint 8.0 und Corel Draw 8.0 (Corel Graphics) weiter bearbeitet, wobei jeweils die Umriss des gesamten Schnittes und die Umriss der Kerngebiete entsprechend der oben genannten Nomenklaturen erfasst wurden. In diesen Querschnitten wurden schematisch die bei einzelnen Tracingstudien markierten Somata und axonalen Fasern dargestellt.

Um einen Überblick über die Stärke der afferenten und efferenten Verbindungen zu geben, wurden zu jedem der untersuchten Kerngebiete Tabellen angefertigt, in denen die Dichte retrograd markierter Somata und anterograd markierter Terminalien

in verschiedenen Kerngebieten beurteilt wurde. Ausgewertet wurden die Schnitte vom Telencephalon bis zur Eintrittsstelle des N. VIII in die Medulla oblongata. Es wurde angegeben, ob die Dichte der Somata bzw. Axone in einem Kerngebiet sehr gering (+), gering (++), hoch (+++) oder sehr hoch (++++) war. Da die Größe der Applikationsstelle einen Einfluss auf die Stärke des Tracings hatte, konnte diese Beurteilung nur relativ erfolgen. Als Referenz für eine sehr hohe Dichte diente dabei das Kerngebiet, in dem die Applikation erfolgte und in dem folglich die meisten Neuronen markiert waren. Angaben zu einer sehr geringen Dichte wurden gemacht, wenn nur einzelne Neuronen eines Kerngebietes retrograd markiert waren bzw. wenn wenige axonale Fasern mit Varikositäten in das Kerngebiet und/oder in das angrenzende Neuropil zogen. Bei einigen Tracingstudien im gleichen Kerngebiet variierte innerhalb der untersuchten Individuengruppe die Dichte markierter Neuronen bzw. Axone in den Zielgebieten sehr stark. In diesen Fällen wurden in der Tabelle der minimale bzw. der maximale Wert der Dichte angegeben, die innerhalb der Individuengruppe gefunden wurden (beispielsweise ++ / ++++ wenn die Dichte bei einigen Präparaten gering, bei anderen jedoch sehr hoch war).

Da für die Beurteilung der funktionellen Bedeutung der Verschaltungen wichtig ist, ob die Verbindungen eines Kerngebietes ipsilateral oder contralateral sind, wurde dieser Aspekt ebenfalls berücksichtigt. Außerdem stellte sich heraus, dass die Dichte der markierten Axone und Somata innerhalb einiger Kerngebiete nicht homogen war. In den entsprechenden Fällen wurden Angaben über die Lage in der rostrocaudalen bzw. dorsoventralen Ausdehnung des Kerngebietes in die Tabelle aufgenommen. Falls die Innervierung des angrenzenden Neuropils eines Kerngebietes sehr stark von der direkten Innervierung der Somata differierte, wurde auch dies berücksichtigt.

Aus den Angaben in den Übersichtstabellen können prinzipiell Rückschlüsse auf die Stärke der afferenten und efferenten Projektionen des untersuchten Kerngebietes gezogen werden. Es ist jedoch zu beachten, dass sichere Angaben zu den Verbindungen eines Kerngebietes nur möglich sind, wenn zweiseitige Kontrollen durchgeführt werden (vgl. 2.5.2.). Außerdem ist zu berücksichtigen, dass die Dichte axonaler Terminalien in einem Kerngebiet abhängig ist von dem Verzweigungsgrad der axonalen Endigungen. Wenn beispielsweise die gleiche Anzahl von Neuronen in zwei Kerngebiete projiziert, so erscheint die Dichte axonaler Terminationsstrukturen bei stark verzweigten Axonen in einem Kerngebiet sehr viel höher, als wenn sich die Axone der gleichen Anzahl von Projektionsneuronen in einem anderen Kerngebiet an ihren Endigungen wenig oder gar nicht verzweigen. Um eine Aussage über die Stärke der Projektionen machen zu können, wurden daher die Tracingstudien in

einem bestimmten Kerngebiet mit den vorhandenen Kontrollapplikationen verglichen. Differierten die Angaben zur Stärke einer Projektion, war die Anzahl retrograd markierter Somata ausschlaggebend für die Beurteilung. Der Vergleich der Tracingstudien mit den Kontrollen wurde in Übersichtsschemata zusammengefasst.

Da die thalamo-telencephalen Verbindungen im Mittelpunkt des Interesses standen, wurde bei den Tracingstudien in den thalamischen Kernen die Anzahl retrograd markierter Somata im Telencephalon statistisch erfasst. Dabei sollte ermittelt werden, ob sich die Projektionsneuronen zum Thalamus in bestimmten Bereichen des Striatum, des Pallium mediale und der septalen Kerne konzentrierten. Jedes Kerngebiet wurde in einen caudalen, einen intermediären und einen rostralen Abschnitt eingeteilt, indem die Gesamtzahl der Hirnquerschnitte, die das jeweilige Kerngebiet umfasste, gedrittelt wurde.

Eine vergleichbare Statistik wurde für die Tracingstudien im Striatum durchgeführt. Anhand dieser Auszählungen sollte ermittelt werden, wie die Neuronen innerhalb des Striatum verschaltet waren. Aufgrund der höheren Anzahl markierter Neuronen konnte das Kerngebiet bei diesen Auszählungen in neun Teilabschnitte eingeteilt werden, wodurch eine bessere räumliche Auflösung gegeben war.

2.6.2.4. Einzelzellanfärbungen

Die intrazellulär markierten Einzelneuronen wurden zeichnerisch rekonstruiert. Dazu wurden die gefärbten Zellbereiche einzelner Schnitte mit Hilfe des Zeichentubus auf Entwurfpapier abgezeichnet, das auf einem Leuchttisch (Rex) befestigt war. Nach Übertragung sämtlicher markierter Zellbereiche im Gehirn auf Papier wurden die Zeichnungen aufeinander folgender Schnitte zu einer zweidimensionalen Rekonstruktion des Neurons zusammengefügt. Die Zeichnungen wurden anschließend eingescannt (Hewlett Packard ScanJet 4c), mit dem Programm Corel OCR-Trace 8.0 vektorisiert und in Corel Draw weiter bearbeitet. Für die endgültige Darstellung wurden wiederum repräsentative Schnittebenen ausgewählt, die alle Kerngebiete, in denen axonale Terminalien gefunden wurden, abdeckten. Die entsprechenden Schnitte wurden mit Hilfe der Digitalkamera eingelesen und die Umrisse sowie die Lage der Kerngebiete mit Hilfe der Zeichenfunktion von Corel Draw erfasst. Die rekonstruierten Strukturen des gefärbten Neurons mehrerer aufeinander folgender Schnitte wurden in diese Umrisszeichnung eingefügt.

3. Ergebnisse

3.1. Extrazellulärableitungen

3.1.1. Methodische Befunde

Mit Hilfe der verwendeten Extrazellulärelektroden konnten im Di- und Telencephalon reproduzierbar evozierte Potentiale (EPs) als Antwort auf eine Stimulation des N. VIII bzw. N. II registriert werden.

Um Artefakte auszuschließen wurden Kontrollen in der Badlösung und im Nervengewebe durchgeführt. In der Badlösung wurden sowohl bei Registrierungen unmittelbar über der dorsalen Oberfläche des Di- und Telencephalon als auch bei Registrierungen in ca. 100 µm Entfernung von den Stimulationselektroden keine EPs als Antwort auf einen Stimulus registriert. Bei Registrierungen in 10 µm Einstichtiefe waren im dorsalen Diencephalon unmittelbar oberhalb der thalamischen Kerne ebenfalls keine EPs zu beobachten. Eine spezifische Reizantwort auf eine Stimulation des N. VIII bzw. N. II konnte bei Kontrollen im ventromedialen Thalamus von *Bombina orientalis* festgestellt werden. Bei einer Stimulation des N. VIII wurden negative EPs registriert, bei einer Stimulation des N. II waren sie hingegen positiv (Abb. 7).

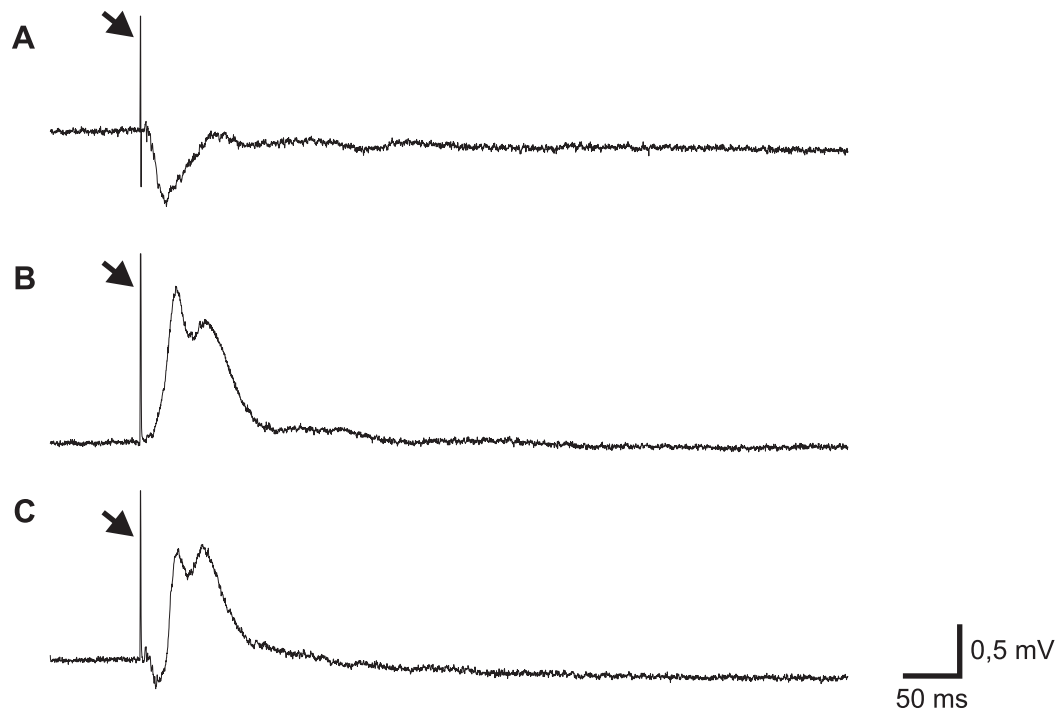


Abb. 7: EPs im ventromedialen Thalamus von *Bombina orientalis*. **A** Stimulation des N. VIII **B** Stimulation des N. II **C** Gleichzeitige Stimulation des N. VIII und N. II. Die Pfeile markieren die Stimulusartefakte.

3.1.2. Extrazellulärableitungen im Diencephalon

3.1.2.1. Durchgeführte Experimente

Extrazellulärableitungen im Diencephalon wurden insgesamt an 23 Individuen von *Hyla versicolor* durchgeführt.

Erfolgreiche Kartierungen des Diencephalon gelangen bei 6 Individuen. Diese Registrierungen wurden zum Vergleich der Latenzen, Amplituden und Dauern der EPs in den jeweiligen thalamischen Kernen herangezogen. Da sich bei Registrierungen über mehrere Stunden teilweise eine Verringerung der Amplitude der EPs zeigte, wurden im Anschluss an eine Kartierung Kontrollen am Ausgangsort durchgeführt. Ausgewertet wurden nur Kartierungen, bei denen die Amplituden der EPs der Kontrollen mindestens 80 % der Amplituden zu Beginn der Extrazellulärableitungen betrugen. Die Latenzen der EPs blieben auch bei mehrstündigen Registrierungen unverändert.

Bei den übrigen 17 Individuen wurden lediglich in einzelnen thalamischen Kernen Extrazellulärableitungen durchgeführt. Diese Registrierungen dienten in der Regel

der exakten Platzierung des neuronalen Tracers Neurobiotin am Ort der maximalen Amplitude der EPs, um die Verschaltungen der Neuronenpopulationen in der unmittelbaren Umgebung der Elektroden Spitze zu ermitteln. Die Latenzen, Amplituden und Dauern dieser EPs wurden bei der statistischen Auswertung in Kap. 3.1.2.2. und Kap. 3.1.2.5. berücksichtigt.

3.1.2.2. Vergleich der Amplitude bei unterschiedlichen Interstimulusintervallen

Bei den Extrazellulärableitungen im Thalamus stellte sich heraus, dass die thalamischen Kerne als Folge einer repetitiven Stimulation des N. VIII eine sehr starke Habituation zeigten: die Amplitude der Antwort nahm bei aufeinander folgenden Stimuli ab, bis ein bestimmter, von der Wiederholungsrate des Stimulus abhängiger Wert erreicht wurde. Dieser Effekt war reversibel: nach einer Stimulationspause von 1 min wurde wieder die Ausgangsamplitude registriert. Um eine gute Vergleichbarkeit zu gewährleisten, sollten die Extrazellulärableitungen im Diencephalon bei einer maximalen Amplitude der EPs durchgeführt werden. Aus diesem Grund wurden Experimente durchgeführt, bei denen die Amplitude der EPs im Thalamus von *Hyla versicolor* in Abhängigkeit von der Stimulationsrate bestimmt wurde. Es wurden Messungen im posterioren, centralen, anterioren und ventromedialen Thalamus jeweils am Ableitort der maximalen Amplitude durchgeführt. Stimuliert wurde mit Interstimulusintervallen von 5 s, 10 s, 20 s, 30 s, 40 s und 50 s. Mit der Aufzeichnung der Registrierungen wurde begonnen, sobald die Amplitude der EPs stabile Werte angenommen hatte. Als Vor- und Nachkontrolle dienten jeweils zehn gemittelte EPs bei einem Interstimulusintervall von 30 s. Die gemittelten EPs bei den übrigen Interstimulusintervallen wurden mit dem Mittelwert der Vor- und Nachkontrolle verglichen. Für eine bessere Vergleichbarkeit wurden die Werte normiert, als Bezugswert diente die Amplitude der EPs bei einem Interstimulusintervall von 30 s (Abb. 8).

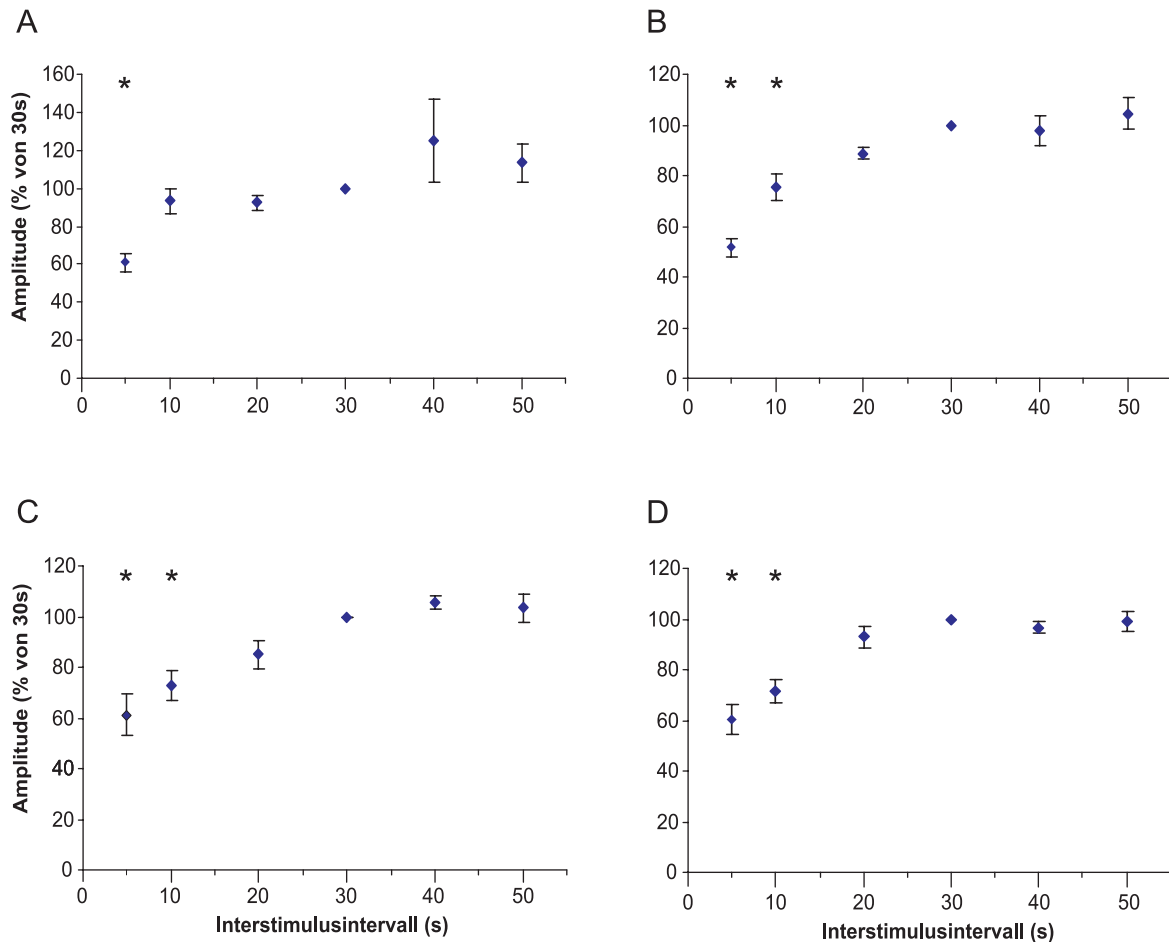


Abb. 8: Abhängigkeit der Amplitude der EPs im Thalamus vom Interstimulusintervall. **A** anteriorer Thalamus (n=5) **B** centraler Thalamus (n=7) **C** posteriorer Thalamus (n=7) **D** ventromedialer Thalamus (n=7). Die Amplituden bei Interstimulusintervallen zwischen 5 s und 50 s wurden auf den Mittelwert der Vor- und Nachkontrolle bei einem Interstimulusintervall von 30 s normiert. Angegeben sind die Mittelwerte (\pm Standardfehler) der normierten Amplituden. Signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) gegenüber der Amplitude bei einem Interstimulusintervall von 30 s sind durch einen Stern gekennzeichnet.

Es zeigte sich, dass im centralen, posterioren und ventromedialen Thalamus bei Interstimulusintervallen von unter 20 s und im anterioren Thalamus bei Interstimulusintervallen von unter 10 s die mittlere Amplitude der EPs signifikant verringert war. Um sicher zu sein, dass bei den Extrazellulärableitungen die maximale Amplitude der EPs gemessen wurde, wurde bei den Registrierungen im Diencephalon ein Interstimulusintervall von 30 s verwendet. Die Latenz der EPs in den thalamischen Kernen zeigte im Gegensatz zur Amplitude keine Abhängigkeit vom Interstimulusintervall.

3.1.2.3. Lokalisation der Ableitorte im Diencephalon

Die Rekonstruktion der Elektrodenpenetration an den Einstichorten a bis h mit Hilfe der Markierungen im Gewebe (vgl. 2.4.1.) zeigte, welchen Kerngebieten die Registrierungen in einer bestimmten Tiefe zuzuordnen waren. Für die Ermittlung von Latenz, Amplitude und Dauer der EPs wurden jeweils die Registrierungen an denjenigen Ableitorten herangezogen, an denen die maximale Amplitude der EPs gemessen wurde. Diese Ableitorte sind in Abb. 9 markiert, die jeweiligen Einstichtiefen sind in Tab. 1 angegeben.

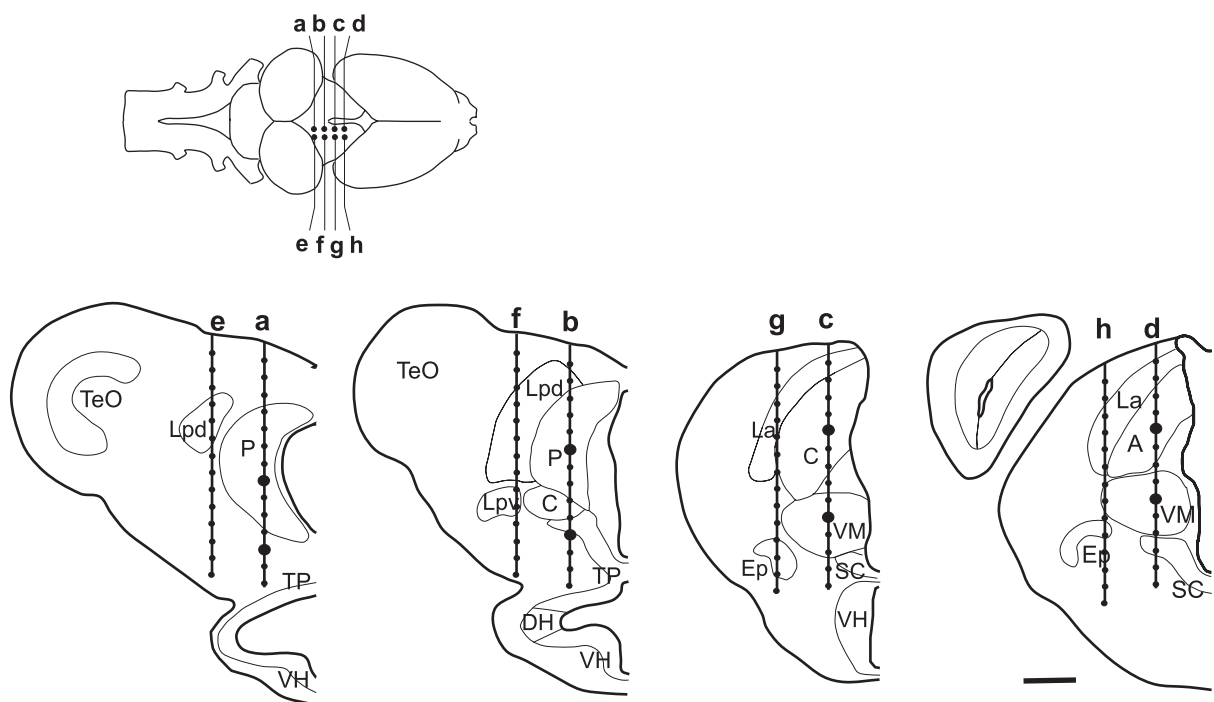


Abb. 9: Schematische Darstellung der Ableitorte an den Einstichorten a bis h im Diencephalon von *Hyla versicolor*. Die Linien stellen den Verlauf der Elektrodenpenetration dar. Die Punkte markieren die Ableitorte und sind jeweils 100 µm voneinander entfernt. Diejenigen Ableitorte, an denen im Verlauf der Elektrodenpenetration Amplitudenmaxima der EPs auftraten, sind dick hervorgehoben. Die Lage der Einstichorte ist in der Ganzhirnaufsicht gezeigt. Maßstab = 200 µm, für Abkürzungen siehe Liste.

Tab. 1: Lokalisation der Ableitorte mit maximaler Amplitude der EPs an den Einstichorten a bis d.

Ableitort mit maximaler Amplitude (Einstichort/Einstichtiefe [μm])	Hirngebiet
a/800	posteriorer Thalamus (P)
a/1200	Neuropil
b/600	posteriorer Thalamus (P)
b/1100	Neuropil
c/500	centraler Thalamus (C)
c/1000	ventromedialer Thalamus (VM)
d/500	anteriorer Thalamus (A)
d/900	ventromedialer Thalamus (VM)

3.1.2.4. Kartierungen im Diencephalon

Bei den Kartierungen zeigte sich, dass EPs nach einer Stimulation des N. VIII lediglich an den Einstichorten a bis d registriert wurden. Die EPs im Thalamus von *Hyla versicolor* waren alle in die negative Richtung ausgelenkt. Typischerweise wurde nach dem Erreichen des Amplitudenmaximums zunächst eine vergleichsweise schnelle Repolarisation beobachtet, 70 - 100 ms nach Antwortbeginn verlangsamte sich dieser Prozess jedoch und das Potential der Nulllinie wurde erst nach 7 - 18 s erreicht. In Abb. 10 ist ein Beispiel für eine Kartierung des Diencephalon an den Einstichorten b bis d dargestellt.

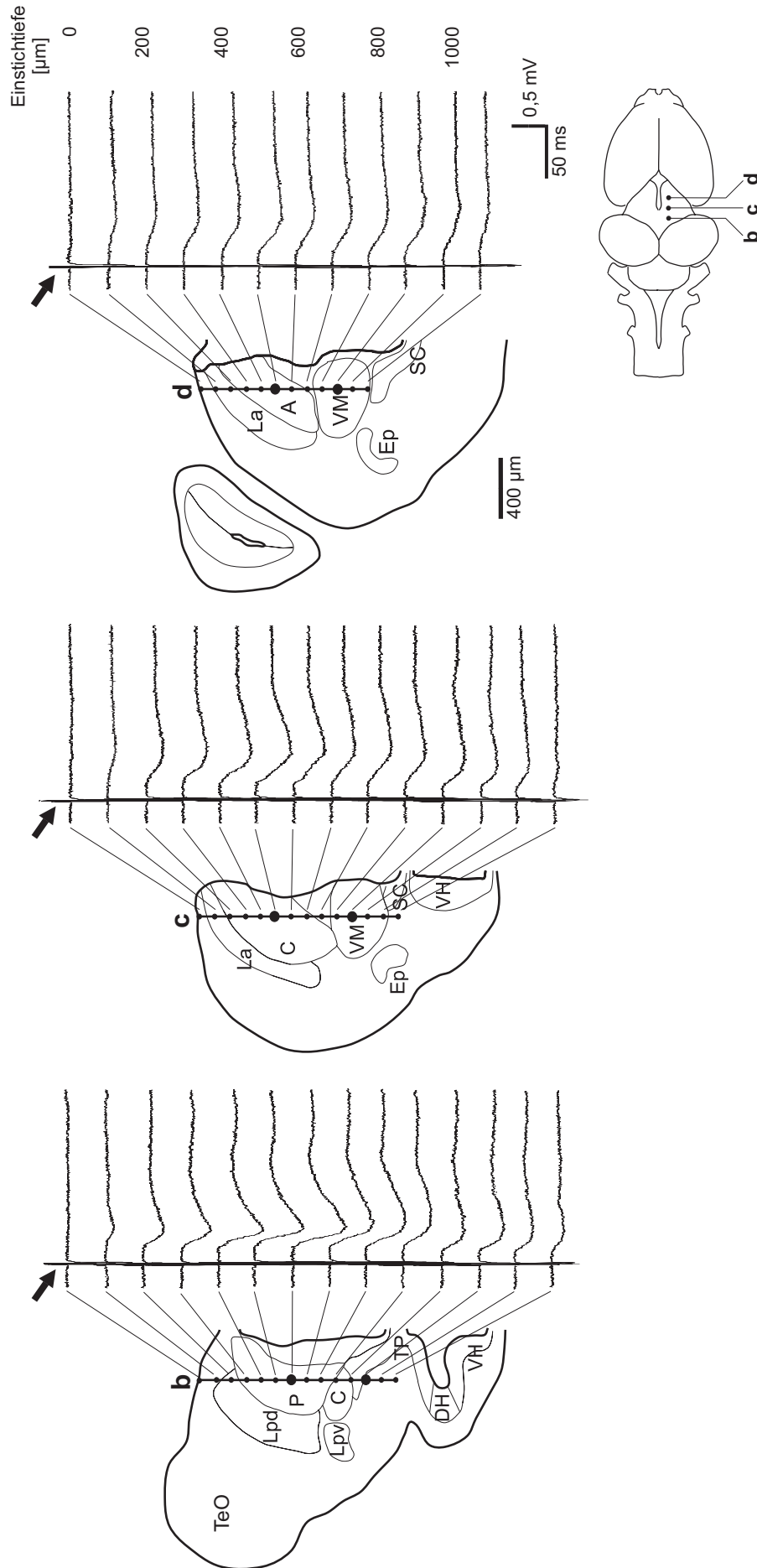


Abb. 10: Registrierung von EPs im Diencephalon nach einer Stimulation des kontralateralen N. VIII. Jeweils auf der linken Seite ist der Verlauf der Elektrodenpenetration an den Einstichorten b bis d in schematischen Transversalschnitten des Diencephalon dargestellt, auf der rechten Seite die gemittelten Ableitungen an den durch Punkte markierten Ableitorten. Die Lage der Einstichorte ist in der Ganzhirnaufsicht angegeben, die Pfeile markieren die Stimulusartefakte. Für Abkürzungen siehe Liste.

Die kürzesten Mittelwerte der Latenzen wurden mit $10,0 \pm 2,8$ ms ($n=4$) am Ableitort a/1200 gemessen, die längsten mit $16,0 \pm 3,7$ ms ($n=6$) am Ableitort d/500 im anterioren Thalamus (Tab. 2).

Tab 2: Mittelwerte (\pm Standardabweichungen) der Latenzen der EPs an den Einstichorten a bis d im Diencephalon nach einer Stimulation des N. VIII.

Einstichort	Latenz (ms)
a/800	$14,5 \pm 3,4$ ($n=4$)
a/1200	$10,0 \pm 2,8$ ($n=4$)
b/600	$14,8 \pm 3,6$ ($n=6$)
b/1100	$10,2 \pm 2,9$ ($n=6$)
c/500	$14,7 \pm 4,0$ ($n=6$)
c/1000	$12,5 \pm 3,1$ ($n=6$)
d/500	$16,0 \pm 3,7$ ($n=6$)
d/900	$14,2 \pm 4,4$ ($n=6$)

Bei zwei Kartierungen wurden am Einstichort a keine Registrierungen durchgeführt. Für den Vergleich der Latenzen wurden die Werte daher auf den Ableitort c/500 normiert. Die mittleren Latenzen der ventral gelegenen Ableitorte (a/1200, b/1100, c/1000, d/900) zeigten eine signifikante Zunahme von caudal nach rostral. Bei den dorsal gelegenen Ableitorten (a/800, b/600, c/500, d/500) war der Anstieg der Latenz von caudal nach rostral hingegen nicht signifikant (Abb. 11). An den einzelnen Einstichorten waren die mittleren Latenzen an den ventral gelegenen Ableitorten jeweils kürzer als dorsal, signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) wurden an den Einstichorten a und b bestimmt.

Die Amplituden der EPs wurden für einen Vergleich ebenfalls normiert. Als Bezugswert diente jeweils die Amplitude am Ableitort c/500 im centralen Thalamus. Bei den Kartierungen wurden die höchsten Amplituden jeweils im posterioren Thalamus (a/800 und b/600) und die niedrigsten Amplituden im anterioren Thalamus (d/500) gemessen (Abb. 11).

Die Gesamtdauer der EPs schwankte zwischen 7 und 18 s. Da sich die EPs nur sehr langsam der Nulllinie annäherten, war die Gesamtdauer nur selten exakt zu ermitteln. Auf eine statistische Erfassung der Werte wurde daher verzichtet.

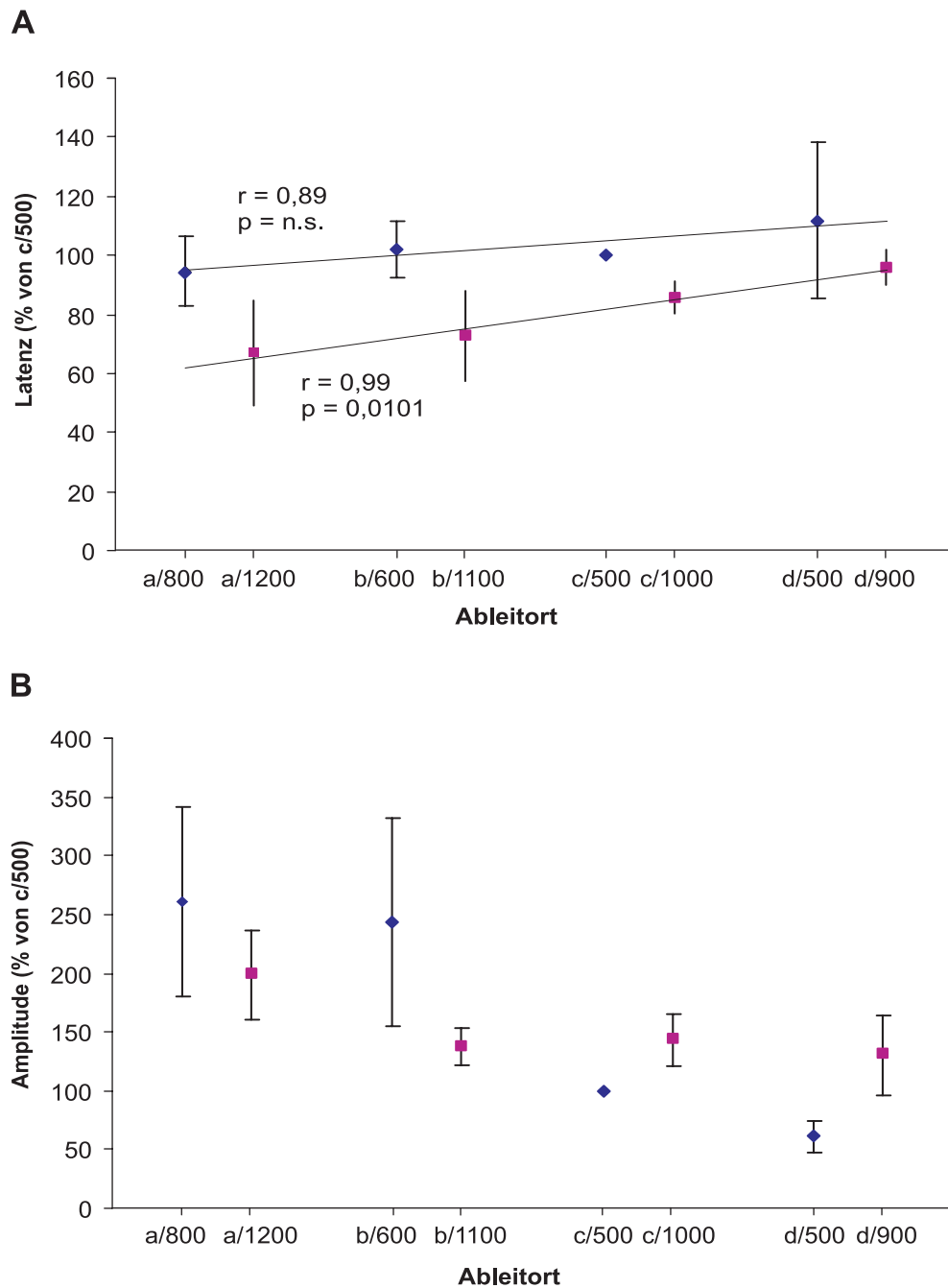


Abb. 11: Mittelwerte (\pm Standardabweichungen) der normierten Latenzen (A) und Amplituden (B) der EPs an den Einstichorten a bis d im Diencephalon nach einer Stimulation des N. VIII. Die Werte wurden auf die Latenzen im centralen Thalamus (c/500) normiert. r = Korrelationskoeffizient, p = Signifikanzniveau, n.s.= nicht signifikant.

3.1.2.5. Vergleich der EPs im centralen und ventromedialen Thalamus

Bei den EPs im ventromedialen Thalamus konnten bei mehreren Ableitungen zwei negative Maxima unterschieden werden. Die meisten dieser Ableitungen wurden am Einstichort c durchgeführt. Die EPs im ventromedialen Thalamus (c/1000) wurden mit den EPs im centralen Thalamus (c/500) verglichen. Das erste Amplitudenmaximum im ventromedialen Thalamus (VM I) wurde im Mittel $36,0 \pm 6,4$ ms ($n=7$) nach dem Stimulusbeginn erreicht, das zweite Maximum (VM II) nach $61,1 \pm 15,6$ ms ($n=7$). Das singuläre Amplitudenmaximum im centralen Thalamus lag mit einem Mittelwert von $46,9 \pm 7,5$ ms ($n=7$) zwischen diesen beiden Maxima. Alle Wertegruppen unterschieden sich signifikant voneinander (Abb. 12).

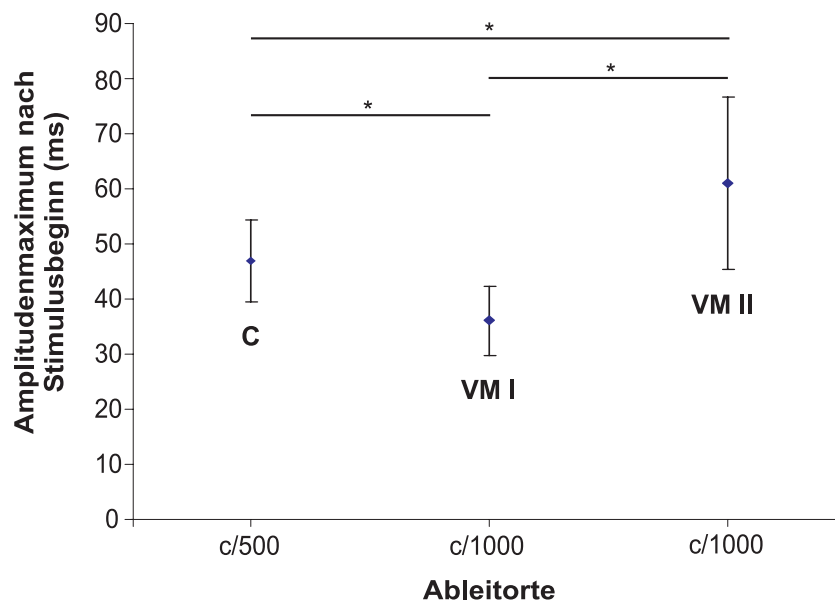


Abb. 12: Zeitpunkt des Amplitudenmaximums nach Stimulusbeginn (Mittelwerte \pm Standardabweichung) am Einstichort c. Der ventromediale Thalamus wies zwei Maxima auf (VM I, VM II), der zentrale Thalamus nur ein singuläres Maximum (C). Signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) zwischen den Wertegruppen sind durch einen Stern gekennzeichnet.

Abb. 13 zeigt beispielhaft die Elektrodenpenetration am Einstichort c mit den gemittelten Ableiturspuren an den angegebenen Ableitorten. Die Zeitpunkte, nachdem die maximalen Amplituden im centralen bzw. ventromedialen Thalamus erreicht wurden, sind markiert. Die Abbildung zeigt außerdem die Applikationsstelle des Tracers Neurobiotin an dem Ableitort mit der maximalen Amplitude im ventromedialen Thalamus.

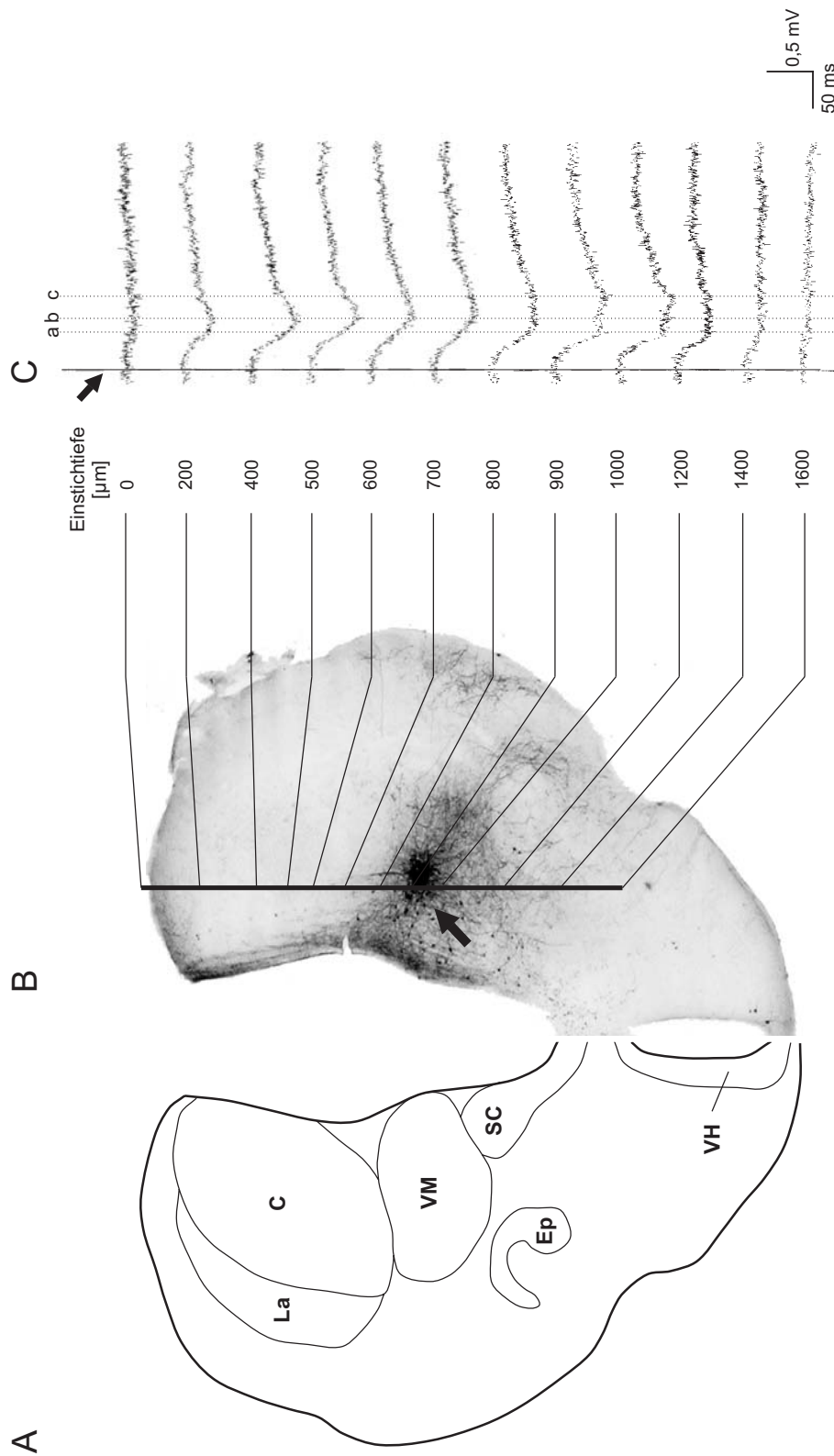


Abb. 13: Registrierung von EPs im Diencephalon in Kombination mit einer extrazellulären Tracingstudie. **A** Schemazeichnung eines Transversalschnitts durch das Diencephalon. **B** Mikrofotografie des Transversalschnitts mit der Applikationsstelle von Neurobiotin im ventromedialen Thalamus (Pfeil) und den markierten neuronalen Strukturen. Die vertikale Linie zeigt den Verlauf der Elektrodenpenetration von dorsal nach ventral mit den Ableitorten in 0 bis 1600 μm Tiefe. **C** Gemittelte Ableitungen der evozierten Potentiale an den angegebenen Ableitorten. Die maximalen Amplituden wurden in 500 μm Tiefe im zentralen Thalamus bzw. in 900 μm Tiefe im ventromedialen Thalamus registriert. Die gestrichelten Linien zeigen den Zeitpunkt der Amplitudenmaxima in 500 μm Tiefe (b) und in 900 μm Tiefe (a, c) an. Der Pfeil markiert das Reizartefakt. Für Abkürzungen siehe Liste.

3.1.3. Extrazellulärableitungen im Striatum

3.1.3.1. Durchgeführte Experimente

Im Telencephalon wurden Extrazellulärableitungen im ventrolateralen Bereich der Hemisphären durchgeführt. Dort befindet sich nach der Nomenklatur von Kicliter und Northcutt (1980) das Striatum. Erfolgreiche Registrierungen wurden bei 5 Individuen von *Hyla versicolor* und 3 Individuen von *Bombina orientalis* durchgeführt.

3.1.3.2. Vergleich der Amplitude im Striatum bei unterschiedlichen Interstimulusintervallen

Wie der Thalamus zeigte das Striatum eine starke Habituation als Reaktion auf eine repetitive Stimulation des N. VIII. Daher wurden auch in diesem Kerngebiet Vorexperimente durchgeführt, bei denen die Amplitude der EPs in Abhängigkeit vom Interstimulusintervall bestimmt wurde. Auf diese Weise sollte sowohl für die Extrazellulär- als auch für die Intrazellulärableitungen im Striatum bestimmt werden, bei welchem Interstimulusintervall eine maximale Antwort ausgelöst werden konnte. Bei den Vorexperimenten wurden Interstimulusintervalle von 5 s, 10 s, 20 s, 30 s, 50 s, 70 s und 90 s bei *Hyla versicolor* (n=4) und *Bombina orientalis* (n=2) getestet, als Stimulus diente der jeweilige Standardstimulus (vgl. 2.4.1.). Vor- und Nachkontrollen wurden entsprechend der Experimente im Thalamus durchgeführt (vgl. 3.1.2.2.). Für eine bessere Vergleichbarkeit wurden die Werte normiert, als Bezugswert diente die Amplitude der EPs bei einem Interstimulusintervall von 30 s. Bei *Bombina orientalis* wurde zusätzlich die Habituation des Striatum als Antwort auf eine Stimulation des contralateralen N. II getestet (n=2).

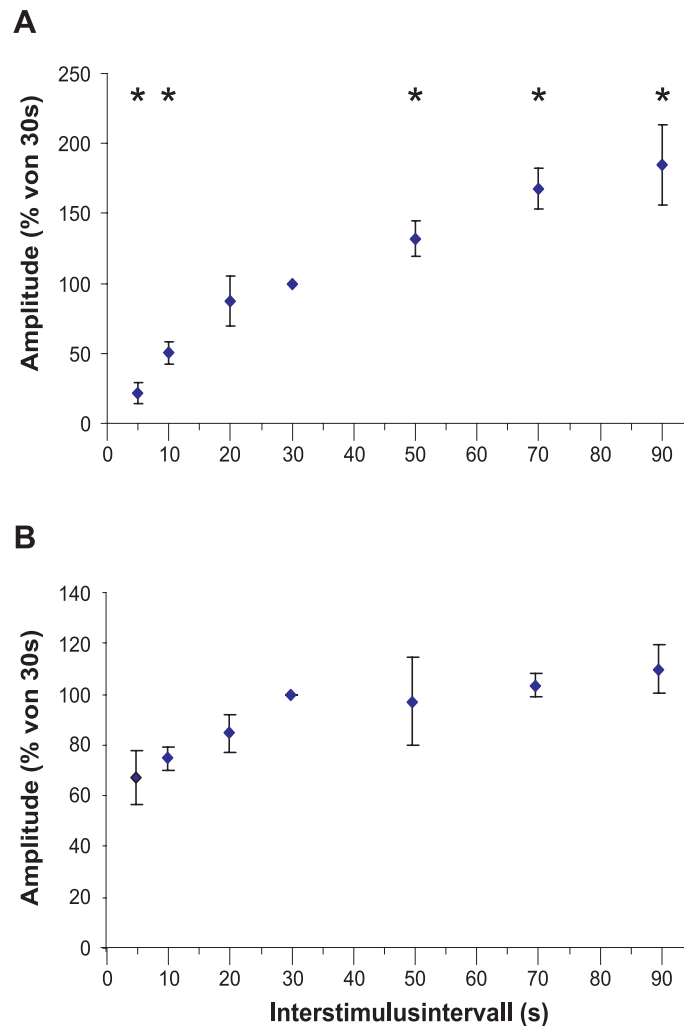


Abb. 14: Abhängigkeit der Amplitude der EPs im Striatum vom Interstimulusintervall. **A** *Hyla versicolor*, Stimulation N. VIII (n=4). **B** *Bombina orientalis*, Stimulation N. II (n=2). Die Amplituden bei Interstimulusintervallen zwischen 5 s und 90 s wurden auf den Mittelwert der Vor- und Nachkontrolle bei einem Interstimulusintervall von 30 s normiert. Dargestellt sind die Mittelwerte (\pm Standardfehler) der normierten Amplituden. Signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) gegenüber der Amplitude bei einem Interstimulusintervall von 30 s sind in A durch einen Stern gekennzeichnet. In B wurde aufgrund der geringen Stichprobenzahl auf einen Signifikanztest verzichtet.

Es zeigte sich, dass bei einer Stimulation des N. VIII im Striatum sowohl bei *Hyla versicolor* als auch bei *Bombina orientalis* die Amplitude der EPs bei den getesteten Interstimulusintervallen von 5 - 90 s anstieg, ohne dass stabile Werte erreicht wurden. Bei einer Stimulation des N. II erreichte die Amplitude der EPs bereits früher stabile Werte, aufgrund der geringen Stichprobe war allerdings kein aussagekräftiger Signifikanztest möglich. Die Latenz der EPs im Striatum zeigte im Gegensatz zur Amplitude keine Abhängigkeit vom Interstimulusintervall. Da ein Interstimulusintervall von über 90 s bei den Untersuchungen sehr unpraktikabel gewesen wäre, wurde bei

den Extrazellulärableitungen im Striatum ein Standard-Interstimulusintervall von 50 s verwendet.

3.1.3.3. Lokalisation der Ableitorte im Striatum

Die Einstichorte x bis z befanden sich im caudalen, intermediären und rostralen Striatum. Abb. 15 zeigt den Verlauf der Elektrodenpenetrationen von ventral nach dorsal. Bei allen Registrierungen befanden sich die Ableitorte innerhalb des Striatum.

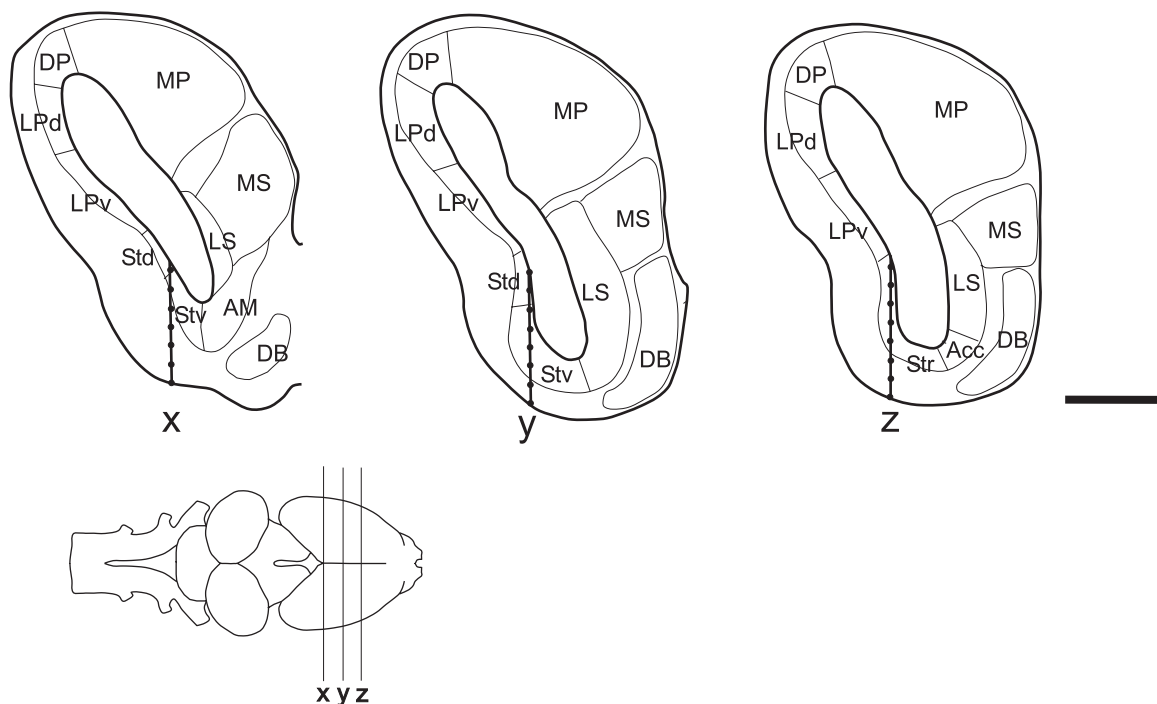


Abb. 15: Schematische Darstellung der Ableitorte an den Einstichorten x bis z im caudalen, intermediären und rostralen Striatum von *Hyla versicolor*. Gezeigt sind schematische Transversalschnitte der linken telencephalen Hemisphäre. Die Linie stellt den Verlauf der Elektrodenpenetration von ventral nach dorsal dar. Die Punkte markieren die Ableitorte und sind jeweils 100 µm voneinander entfernt. Die Schnittebenen sind in der Ganzhirnaufsicht gekennzeichnet. Maßstab = 500 µm, für Abkürzungen siehe Liste.

3.1.3.4. Kartierungen im Striatum

Die Registrierung von EPs im Striatum erwies sich als sehr viel schwieriger, als im Diencephalon. Auch wenn Vorkontrollen im Thalamus typische EPs mit großen Amplituden zeigten, wurden im Striatum häufig keine Antworten registriert.

Bei *Hyla versicolor* stellte sich heraus, dass das Striatum keine Antworten auf einen einfachen Puls zeigte, während komplexe Stimuli zur Auslösung von EPs führten. Bei Vorexperimenten (n=3) erwies sich ein Stimulus von 5 Pulsen und 40 Hz als optimal, um eine maximale Amplitude der EPs zu erzielen (Abb. 16).

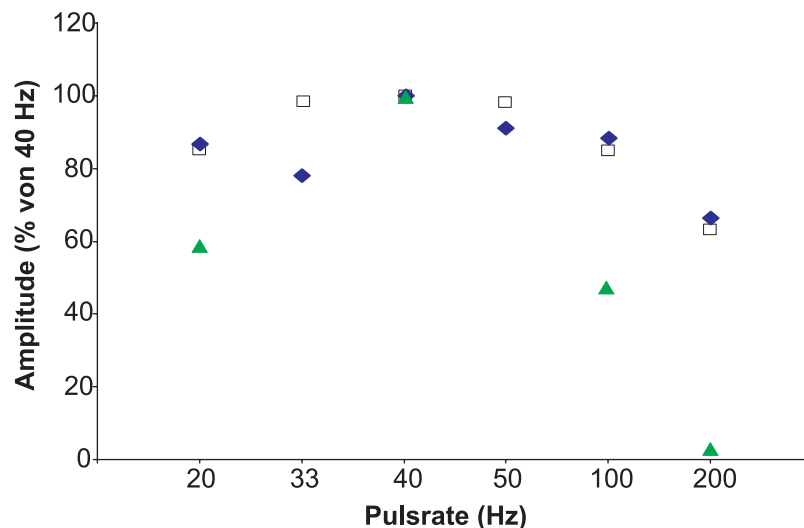


Abb. 16: Abhängigkeit der Amplitude der EPs von der Pulsrate im Striatum von *Hyla versicolor*. Getestet wurden bei drei Individuen Stimuli mit jeweils 5 Pulsen und Pulsraten zwischen 20 und 40 Hz entsprechend der Angaben in der Abbildung.

Bei vier von fünf Individuen von *Hyla versicolor*, bei denen überhaupt EPs als Antwort auf eine Stimulation des N. VIII ausgelöst wurden, wurden lediglich im caudalen Striatum (Einstichort x) EPs registriert. Nur bei einem Individuum traten auch bei den weiter rostral gelegenen Einstichorten y und z EPs auf. Als Antwort auf eine Stimulation des N. VIII wurden im Striatum von *Hyla versicolor* negative EPs registriert. Wegen der experimentellen Schwierigkeiten konnten die Kartierungen im Striatum nicht bezüglich rostraler und caudaler Unterschiede ausgewertet werden. Im caudalen Striatum (Einstichort x) lag die Amplitude im Mittel bei $245 \pm 33 \mu V$ (n=5), die Latenzen betrugen im Mittel $37,6 \pm 14,0$ ms (n=5), die maximale Amplitude wurde im Mittel $126,1 \pm 39,6$ ms (n=5) nach Stimulusbeginn erreicht und der Mittelwert der Gesamtdauer der EPs lag bei $199,8 \pm 44,3$ ms (n=4). Ausgewertet wurden an jedem Einstichort die EPs mit der maximalen Amplitude. Abb. 17 zeigt typische EPs im Striatum von *Hyla versicolor* am Ableitort x in unterschiedlichen Einstichtiefen. Die maximale Antwort auf einen Stimulus wurde im ventrikelnahen Bereich der Somata registriert.

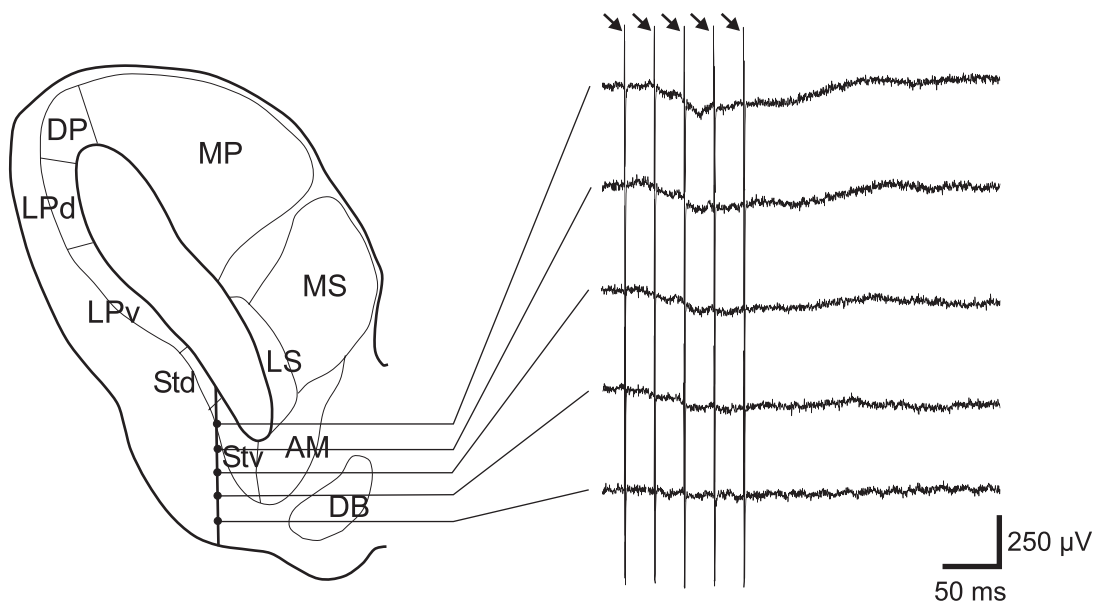


Abb. 17: Registrierung von EPs im caudalen Striatum von *Hyla versicolor* als Antwort auf eine Stimulation des contralateralen N. VIII. Auf der linken Seite ist der Verlauf der Elektrodenpenetration von ventral nach dorsal in einem schematischen Transversalschnitt des caudalen Telencephalon (Einstichort x) dargestellt. Auf der rechten Seite sind die gemittelten Ableitspuren an den durch Punkten markierten Ableitorten gezeigt. Die Pfeile markieren die Stimulusartefakte. Für Abkürzungen siehe Liste.

Ursprünglich waren die elektrophysiologischen Untersuchungen nur an *Hyla versicolor* geplant. *Bombina orientalis* erwies sich jedoch für die Intrazellulärableitungen als besser geeignet (vgl. 3.3.1.). Da vor Beginn der Intrazellulärableitungen im caudalen Striatum Kontrollableitungen mit einer Extrazellulärelektrode durchgeführt wurde, um die Intaktheit der stimulierten Nerven zu kontrollieren (2.4.2.), wurden auch bei einigen Individuen von *Bombina orientalis* EPs im Striatum aufgezeichnet. Die Latenzen, Amplituden und Dauern dieser Antworten wurden ebenfalls ausgewertet. Bei *Bombina orientalis* wurden, anders als bei *Hyla versicolor*, auch bei einem einfachen elektrischen Puls am N. VIII EPs im Striatum registriert. Die EPs wiesen wie im Striatum von *Hyla versicolor* eine negative Amplitude auf (vgl. Abb. 18). Die Amplitude der EPs lag im Mittel bei $380 \pm 28 \mu\text{V}$ ($n=3$). Der Mittelwert der Latenz der EPs betrug $35,7 \pm 2,3 \text{ ms}$ ($n=3$). Die maximale Amplitude wurde im Mittel $72,7 \pm 10,2 \text{ ms}$ ($n=3$) nach Stimulusbeginn erreicht. Die Gesamtdauer der EPs lag im Mittel bei $70,3 \pm 11,0 \text{ ms}$ ($n=3$).

3.1.3.5. Vergleich der EPs bei einer Stimulation des N. VIII und des N. II

Im Striatum von *Bombina orientalis* wurden im Striatum neben den Antworten auf eine Stimulation des N. VIII auch die Antworten auf eine Stimulation des N. II registriert. Als Antwort auf eine Stimulation des N. II (1 Puls, 50 s Interstimulusintervall) zeigte das Striatum negative EPs (Abb. 18) mit einer mittleren Latenz von $37,7 \pm 9,3$ ms ($n=3$), die maximale Amplitude wurde im Mittel $60,6 \pm 10,6$ ms ($n=3$) nach Stimulusbeginn erreicht. Die Amplitude dieser EPs wurde mit der Amplitude der EPs nach einer Stimulation des N. VIII verglichen. Es zeigte sich, dass die Amplitude der EPs im Striatum nach einer Stimulation des N. II um 354 ± 169 % höher waren als nach einer Stimulation des N. II ($n=3$).

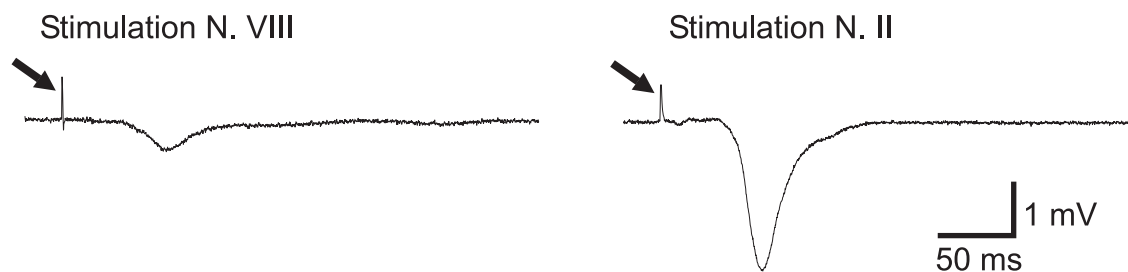


Abb. 18: EPs im caudalen Striatum nach einer Stimulation des N. VIII bzw. N. II. Die Pfeile markieren die Stimulusartefakte.

3.2. Extrazelluläre Tracingstudien

3.2.1. Methodische Befunde

Der Marker Neurobiotin wurde am Applikationsort vollständig von den umgebenden Neuronen aufgenommen. Die Neuronen, die an den Applikationsort grenzten, waren gleichmäßig tiefschwarz markiert. Ihre Dendritenbäume waren bis in die distalen Spitzen angefärbt und dendritische Dornen (Spines) waren lichtmikroskopisch gut zu erkennen. Der Applikationsort war in der Regel kugelförmig. Der Durchmesser variierte zwischen 20 und 155 μ m, er konnte anhand der Stärke des Applikationsstroms bestimmt werden. Bei größeren Applikationen war das Gewebe in der Mitte des Applikationsortes durch die Stromeinprägung zerstört.

Ein anterograde Transport war auch bis in entfernte Hirnregionen zu beobachten. Bei Tracerapplikationen im Striatum waren beispielsweise axonale Projektionen über eine Entfernung von über 8 mm bis in das Rückenmark zu verfolgen. Die Axone

waren in allen Bereichen gleichmäßig angefärbt. Der retrograde Transport war prinzipiell gut. Retrograd markierte Somata waren in der Regel auch in mehreren Millimetern Entfernung tiefschwarz angefärbt. Allerdings waren bei einigen Tracings auch schwach grau markierte Somata zu finden. Dies war in der Regel auf Schwierigkeiten bei der Aufarbeitung der Gehirne zurückzuführen, beispielsweise auf ungleichmäßig dicke Hirnschnitte während des Schneidevorgangs am Vibratom. Eine Transportzeit von 24 - 48 h erwies sich als optimal, um intensive Anfärbungen von Neuronen auch in weit entfernten Hirnregionen zu erzielen.

Für die Auszählung retrograd markierter Neuronen im Telencephalon wurden nur diejenigen Tracingstudien herangezogen, bei denen die telencephalen Schnitte vollständig erhalten waren. Die Ergebnisse wurden mit den anderen Tracingstudien qualitativ verglichen und standen jeweils in guter Übereinstimmung. Bei den Applikationen im Thalamus wurden nur relativ wenige retrograd markierte Neuronen im Telencephalon gefunden. Dies erklärt sich durch den geringen Durchmesser der Applikationsorte. Die Befunde können dennoch als repräsentativ für die Verteilung der Projektionsneuronen in den telencephalen Kerngebieten angesehen werden.

3.2.2. Durchgeführte Experimente

Erfolgreiche Tracingstudien wurden an 43 Tieren durchgeführt. Bei der überwiegenden Anzahl der Studien wurden Individuen der Art *Hyla versicolor* verwendet (n=36). Zusätzlich wurden Tracingstudien bei *Bombina orientalis* durchgeführt (n=7). Diese Tracingstudien erlaubten einen Vergleich der Gesamtprojektionen des Striatum mit den Projektionsmustern einzelner intrazellulär markierter Neuronen von *Bombina orientalis* (vgl. 3.3.3.).

Tab. 3: Übersicht über die durchgeführten Tracingexperimente. Die Bezeichnung des jeweiligen Applikationsortes gibt an, in welchem Kerngebiet der Tracer appliziert wurde. Für Abkürzungen siehe Liste.

Applikationsort	Spezies/Datum ¹	Lage des Applikationsortes in der rostrocaudalen Ausdehnung des Kerngebietes ²	Durchmesser des Applikationsortes ³ (µm)
LS 1	Hv/050800	c	Schnitt defekt ³
LS 2	Hv/280800	i	140
LS 3	Hv/021000	r	40
LS 4	Hv/041000 (1)	i-r	70
LS 5	Hv/041000 (2)	r	135

LS 6	Hv/230600	r	30
LS 7	Hv/250702	i	110
MS 1	Hv/260700	i	45
MS 2	Hv/300800	c	115
MS 3	Hv/051000	i-r	50
MS 4	Hv/050701	i	20
MS 5	Hv/280801	c	Schnitt defekt ³
MP 1	Hv/140700	l	140
Str 1	Bo/070600	i	50
Str 2	Hv/160101	i-c	30
Str 3	Hv/050201	c	60
Str 4	Bo/270701	c	70
Str 5	Bo/301101	c	90
Str 6	Bo/280502	r	90
Str 7	Bo/110602	r	110
Str 8	Hv/020902	r	125
A 1	Hv/271000	r	45
A 2	Hv/170801	c	50
A 3	Hv/040702	i	40
C 1	Hv/191099	i-r	40
C 2	Hv/031299	i	55
C 3	Hv/100200	i-r	10
P 1	Hv/291199	i-r	40
P 2	Hv/151299	i-c	70
P 3	Hv/030702	r	50
VM 1	Hv/201099	i-r	55
VM 2	Hv/051199	i	45
VM 3	Hv/050100	i	50
VM 4	Hv/040700	i-c	45
VM 5	Hv/010900	i-r	125
VM 6	Hv/200900	i-r	115
VM/A 1	Hv/121099	c/c	115
VM/TP 1	Hv/140100	c/r	45
SC 1	Hv 130101	r	20
TP 1	Hv/281100	c	Schnitt defekt ³
POa 1	Hv/240702	i	155
POa 2	Bo/260702	r	110
TI 1	Bo/110602	c	100

¹ Hv = *Hyla versicolor* ; Bo = *Bombina orientalis*

² c = caudal ; i = intermediär ; r = rostral

³ Es ist jeweils der maximale Durchmesser angegeben. Bei einigen Tracingstudien war der Schnitt mit der Applikationsstelle defekt, so dass keine Angabe zum Durchmesser der Applikationsstelle gemacht werden konnte.

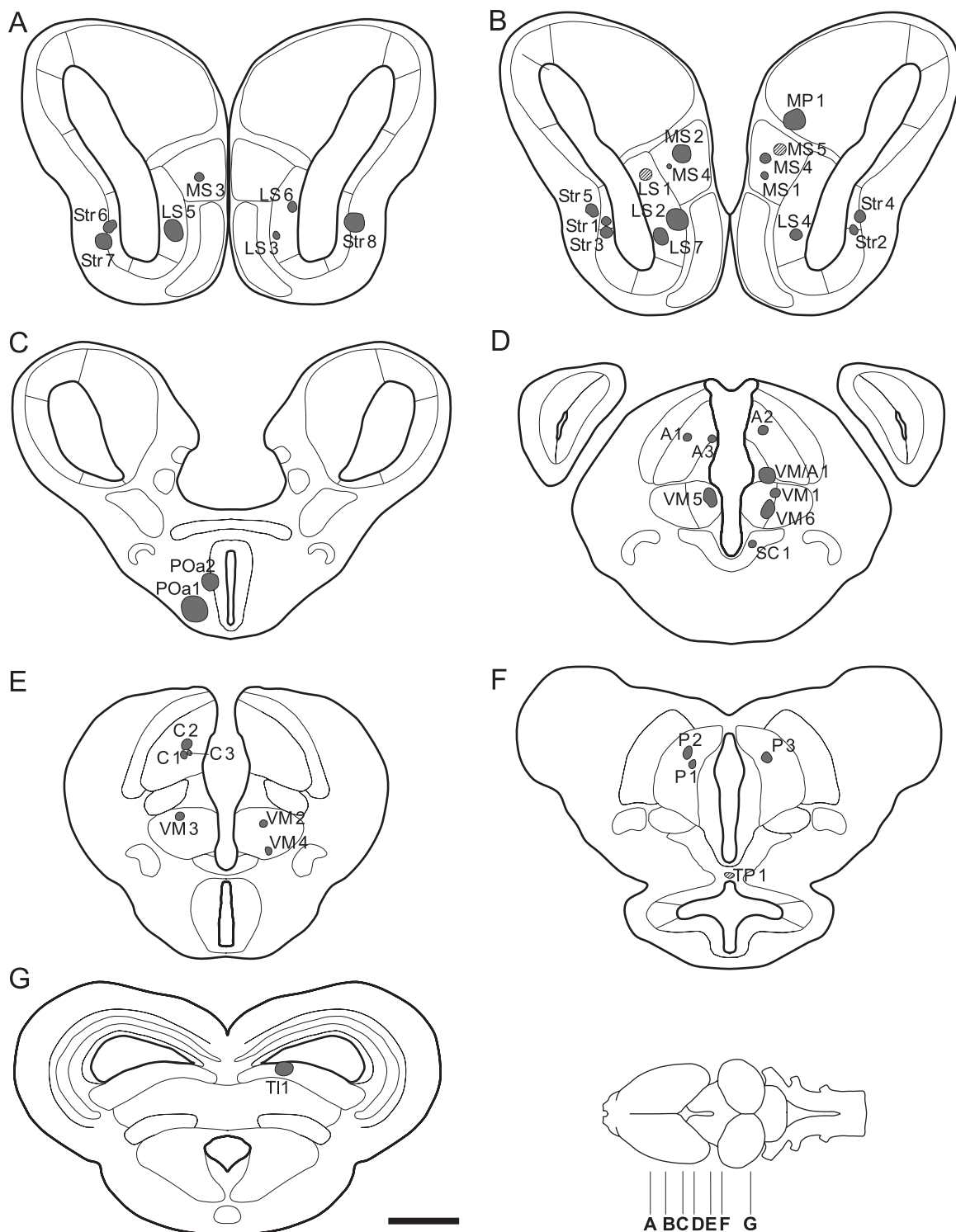


Abb. 19: Schematische Transversalschnitte durch das Tel-, Di- und Mesencephalon. Dargestellt ist die Lage der Applikationsorte der Tracingstudien in der dorsoventralen bzw. mediolateralen Ebene des Gehirns. Die Lage innerhalb der rostrocaudalen Ausdehnung des jeweiligen Kerngebietes ist Tab. 3 zu entnehmen. Applikationsorte, deren Größe aufgrund fehlender Schnitte nur abgeschätzt werden konnte, sind schraffiert. Die Schnittebenen sind in der Ganzhirnaufsicht gekennzeichnet. Maßstab = 500 µm, für Abkürzungen siehe Liste.

3.2.3. Befunde zu den thalamischen Kernen

3.2.3.1. Verbindungen des posterioren Thalamus

Der posteriore Thalamus war mit einer Vielzahl von Kerngebieten im Vorderhirn, Hirnstamm und Rückenmark verschaltet. Tab. I (Anhang) gibt einen Überblick über die Verbindungen.

Afferenzen:

Den überwiegenden Teil seiner Afferenzen erhielt der posteriore Thalamus von der ipsilateralen Seite. Falls zusätzlich Afferenzen von der contralateralen Seite vorlagen, waren sie nur schwach.

Projektionen telencephaler Kerngebiete zum posterioren Thalamus waren insgesamt nur sehr schwach. Im Pallium mediale und im Septum laterale wurden bilateral sehr wenige retrograd markierte Neuronen gefunden. Im ipsilateralen Striatum waren, hauptsächlich im caudalen Bereich, mehrere Somata markiert (Abb. 20). In der medialen Amygdala waren ipsilateral einzelne angefärbte Neuronen zu sehen.

Afferenzen aus der präoptischen Region waren nur schwach. Im Bereich des ipsilateralen Nucleus entopeduncularis posterior wurden einzelne retrograd markierte Neuronen gefunden, deren Zuordnung zu dem Kerngebiet jedoch nicht immer eindeutig war. Die stärksten thalamischen Afferenzen erhielt der posteriore Thalamus aus dem ipsilateralen ventromedialen und ventrolateralen Thalamus (Abb. 21). Im contralateralen ventromedialen Thalamus waren wenige Neuronen markiert. Außerdem wurden auf der contralateralen Seite wenige retrograd markierte Somata im posterioren Thalamus gefunden. Afferenzen aus dem centralen Thalamus waren auf die ipsilaterale Seite beschränkt und nur schwach (Abb. 21). Auch im ipsilateralen anterioren Thalamus waren nur wenige Neuronen markiert. Im Nucleus Bellonci waren einige Somata angefärbt. Afferente Projektionen aus dem Hypothalamus waren nur schwach, lediglich im ventralen Hypothalamus waren ipsilateral einige Neuronen markiert, welche über die rostrocaudale Ausdehnung des Kerngebietes verstreut lagen. Afferenzen aus dem posterioren Tuberculum waren auf die ipsilaterale Seite beschränkt, die Projektionsneuronen lagen insbesondere im ventralen Bereich des Kerngebietes.

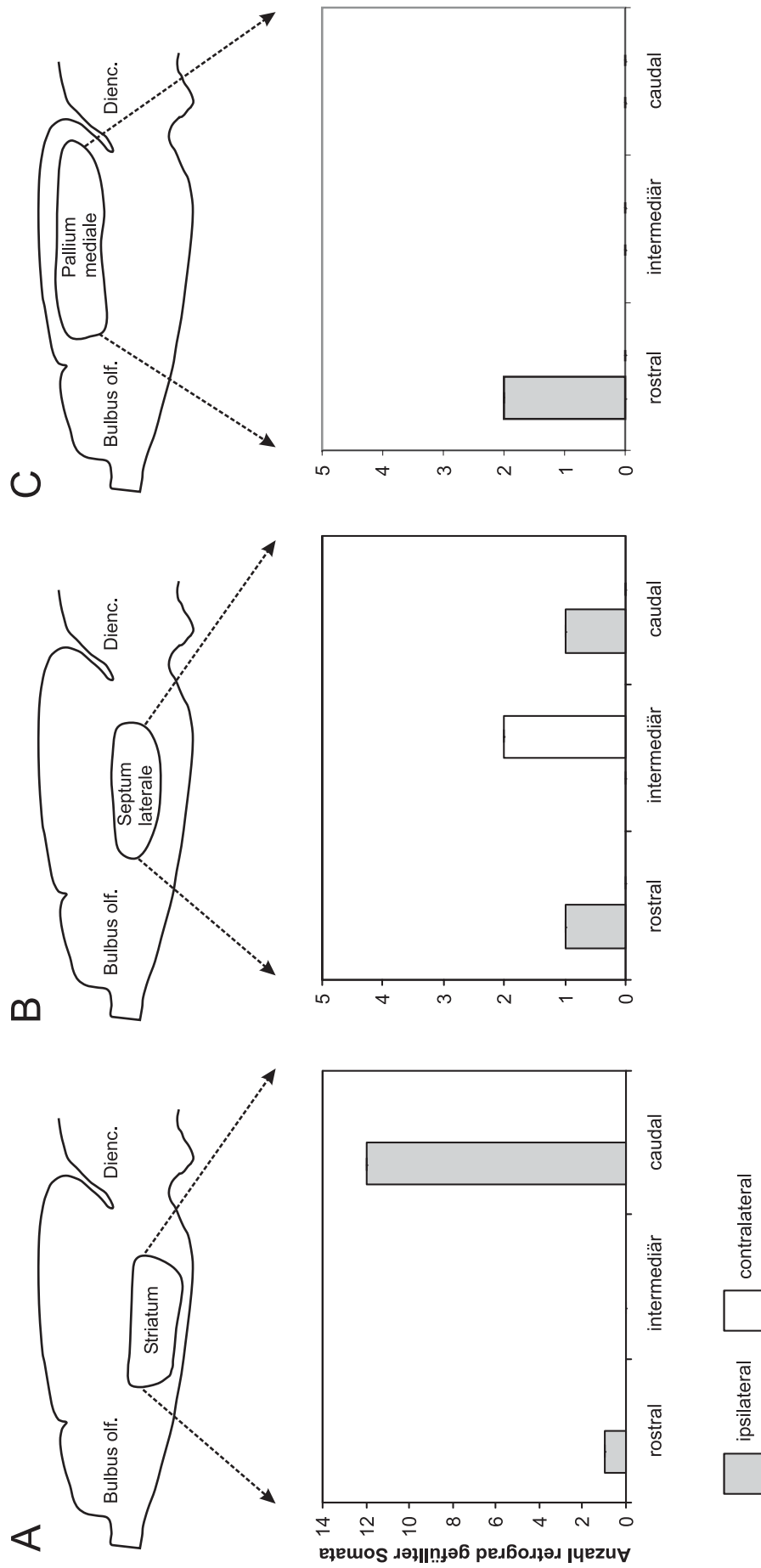


Abb. 20: Retrograd gefüllte Neuronen im Telencephalon von *Hyla versicolor* nach einer Neurobiotin-Applikation im posterioren Thalamus (n=1). Dargestellt ist die Anzahl der retrograd gefüllten Somata auf der ipsilateralen und der contralateralen Seite des Striatum (A), Septum laterale (B) und Pallium mediale (C) jeweils im rostralen, intermediären und kaudalen Bereich des Kerngebietes. Beachte die unterschiedliche Skalierung der Ordinate.

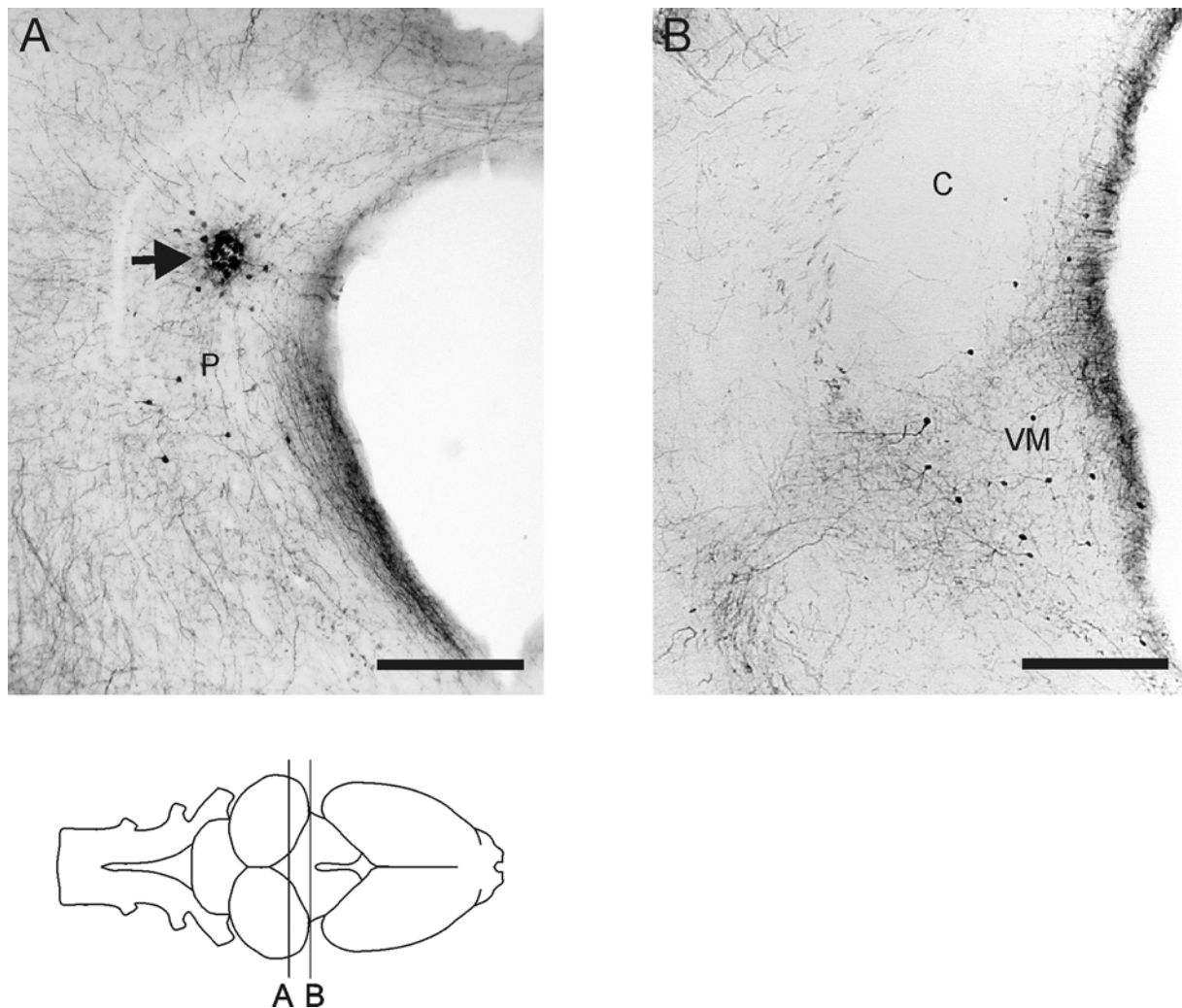


Abb. 21: Mikrofotografien von Transversalschnitten im Diencephalon von *Hyla versicolor* nach einer Neurobiotin-Applikation im posterioren Thalamus. **A** Markierte neuronale Strukturen im Bereich der Applikationsstelle (Pfeil). **B** Markierte neuronale Strukturen im ipsilateralen centralen und ventromedialen Thalamus. Im ventromedialen Thalamus sind wesentlich mehr Somata und axonale Terminalien markiert als im centralen Thalamus. Die Schnittebenen sind in der Ganzhirnaufsicht gekennzeichnet. Maßstab = 100 μ m, für Abkürzungen siehe Liste.

Im praetectalen und praetoralen Grau waren ipsilateral etliche Neuronen markiert, contralateral war ihre Anzahl deutlich geringer. Im Tectum opticum war im mediodorsalen Bereich eine größere Gruppe von Neuronen markiert, ipsilateral waren außerdem Neuronen über die gesamte ventrikelnahen Zellschicht verteilt. Afferenzen aus dem Torus semicircularis beschränkten sich auf den ipsilateralen Nucleus laminaris, die Projektionsneuronen befanden sich insbesondere im kaudalen Bereich des Kerngebietes. Im anterioren Tegmentum waren im ventralen Bereich Neuronen markiert, deren Anzahl ipsilateral relativ hoch war. In den übrigen

Bereichen des Tegmentum wurden bilateral nur einzelne angefärbte Somata gefunden. Im Nucleus lemnisci lateralis waren ipsilateral sehr wenige Neuronen markiert. Vergleichsweise starke Afferenzen erhielt der posteriore Thalamus aus Kernen der ipsilateralen Formatio reticularis, insbesondere aus dem Nucleus reticularis superior und aus dem Nucleus reticularis medius. Contralateral waren in beiden Kerngebieten einzelne Neuronen markiert. Im Griseum centrale befanden sich bilateral einzelne angefärbte Neuronen.

Efferenzen:

Der posteriore Thalamus wies eine Vielzahl von efferenten Projektionen zu Kernen des Diencephalon und des Hirnstammes auf, darüber hinaus zogen axonale Fasern bis in das Rückenmark. Der größte Teil dieser efferenten Projektionen war bilateral, wobei die ipsilateralen Projektionen jeweils stärker waren.

Im Telencephalon wurden nur sehr wenige axonale Terminalien gefunden; es ist anzunehmen, dass sie von retrograd markierten Neuronen in telencephalen Kerngebieten stammten. Diese Axone wiesen größtenteils nur wenige Varikositäten auf und befanden sich im Neuropil des Striatum, des Nucleus accumbens und des Nucleus des Diagonalen Bandes von Broca. Im ventralen Neuropil der medialen Amygdala verliefen bilateral axonale Fasern mit wenigen Varikositäten, die zum Teil bis in das Kerngebiet zogen. Im Bereich des Nucleus entopeduncularis anterior wurden bilateral axonale Terminalien gefunden.

In der präoptischen Region waren, insbesondere ipsilateral, wenige varikose Axone markiert. Zum Nucleus entopeduncularis posterior zogen ipsilateral sehr viele stark varikose Fasern, contralateral war ihre Anzahl wesentlich geringer. In allen thalamischen Kernen wurden bilateral axonale Terminalien beobachtet, wobei die Projektionen zur contralateralen Seite deutlich schwächer waren. Besonders starke Projektionen zeigte der posteriore Thalamus zum ventromedialen, ventrolateralen und posterodorsalen lateralen Thalamus der ipsilateralen Seite. Projektionen zum Nucleus Bellonci, posteroventralen lateralen, anterioren und centralen Thalamus waren deutlich schwächer (vgl. auch Abb. 21). Im Bereich des Hypothalamus verliefen nur sehr wenige Axone, die vermutlich von den retrograd markierten Neuronen im Kerngebiet stammten. Im posterioren Tuberculum waren bilateral wenige axonale Terminalien markiert.

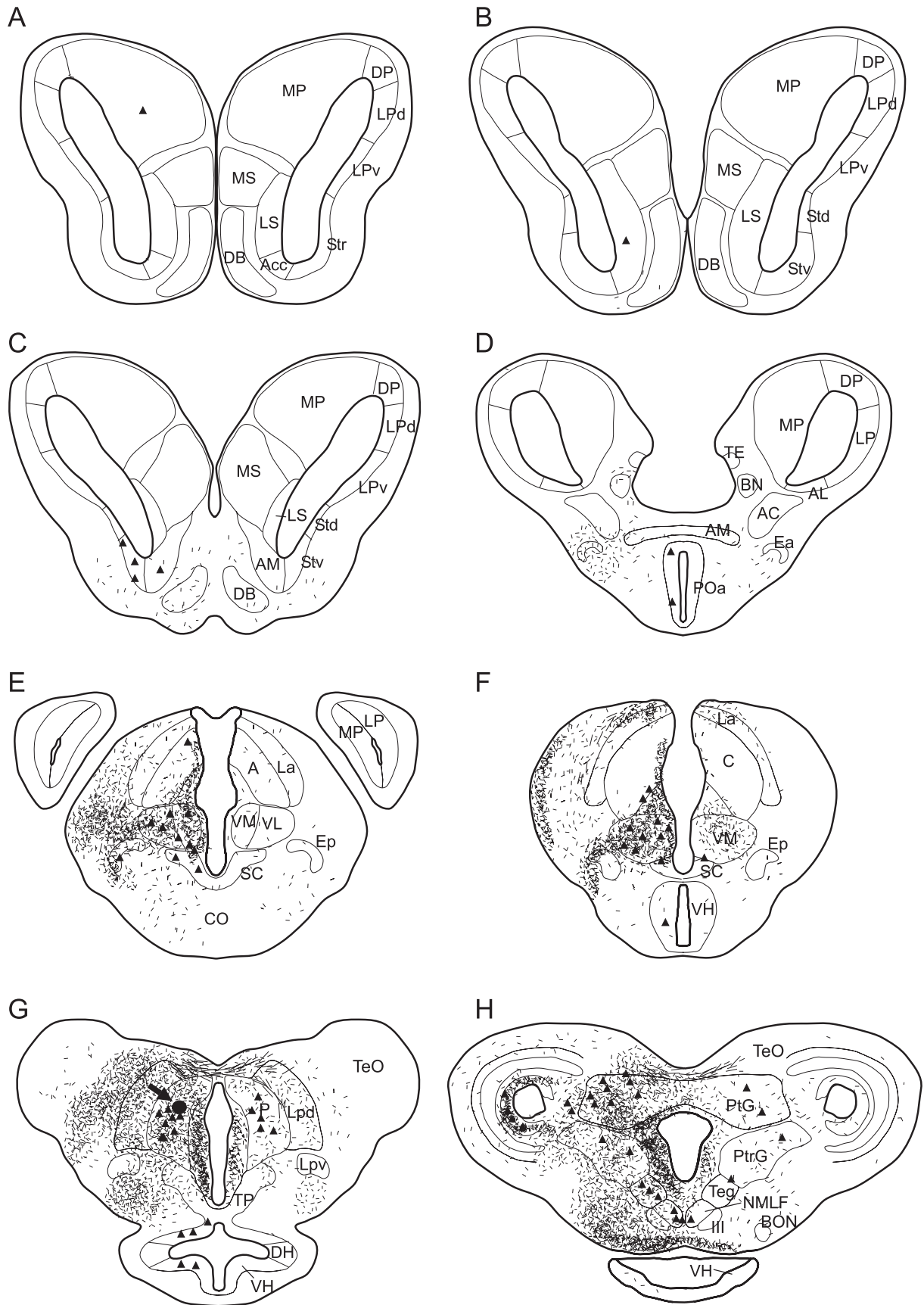
Im praetectalen und praetoralen Grau wurden ipsilateral sehr viele axonale Terminalien gefunden, über die Commissura tecti und die Commissura posterior zogen einige Fasern zur contralateralen Seite. Im Tectum opticum war auf der

ipsilateralen Seite insbesondere die innerste Zellschicht stark von einem Netz feiner varikoser Fasern durchzogen, außerdem verliefen etliche Fasern im lateralen Neuropil; contralateral waren weniger Axone markiert. Im Torus semicircularis wurden hauptsächlich im Nucleus laminaris bilateral axonale Terminalien gefunden. Im Nucleus principalis und magnocellularis war ihre Dichte nur gering, insbesondere contralateral waren nur vereinzelt Axone zu sehen. Im Tegmentum waren insbesondere im anterioren Bereich bilateral Terminalien markiert; contralateral war ihre Dichte jeweils schwächer. Wenige axonale Projektionen verliefen im Bereich des ipsilateralen Nucleus lemnisci lateralis und der Oliva superior. Im Nucleus dorsolateralis terminierten bilateral wenige Axone, wobei die Dichte axonaler Fasern contralateral etwas höher erschien. In verschiedenen Kernen der Formatio reticularis, im Nucleus visceralis secundarius und im Griseum centrale wurden bilateral ebenfalls axonale Terminalien gefunden. Über den Hirnstamm hinaus zogen Axone bis in das Rückenmark.

Angaben zu weiteren Verbindungen des posterioren Thalamus mit kleineren Kerngebieten sind Tab. I (Anhang) zu entnehmen. Abb. 22 zeigt in repräsentativen Transversalschnitten die Verteilung der markierten Somata und Axone.

Vergleich mit den Kontrollen:

Die Befunde der Kontrollapplikationen standen in guter Übereinstimmung mit den Tracingstudien im posterioren Thalamus. So bestätigten Kontrollen im Pallium mediale, Septum laterale und Striatum schwache Projektionen zum posterioren Thalamus. Bei Kontrollapplikationen in der Area praeoptica anterior wurden im ipsilateralen posterioren Thalamus wenige axonale Fasern mit Varikositäten sowie einzelne retrograd markierte Neuronen gefunden, die eine sehr schwache reziproke Verbindung zwischen den beiden Kerngebieten nahelegen. Applikationen in den verschiedenen Thalamuskernen standen in sehr guter Übereinstimmung mit den Tracingstudien im posterioren Thalamus. Kontrollen im Torus laminaris bestätigten Projektionen zum posterioren Thalamus. Der Vergleich der Tracingstudien im posterioren Thalamus mit den Kontrollen im Telencephalon und im Thalamus ist in den Übersichtsschemata in Abb. 37 bis Abb. 39 am Ende von Kap. 3.2. zusammengefasst.



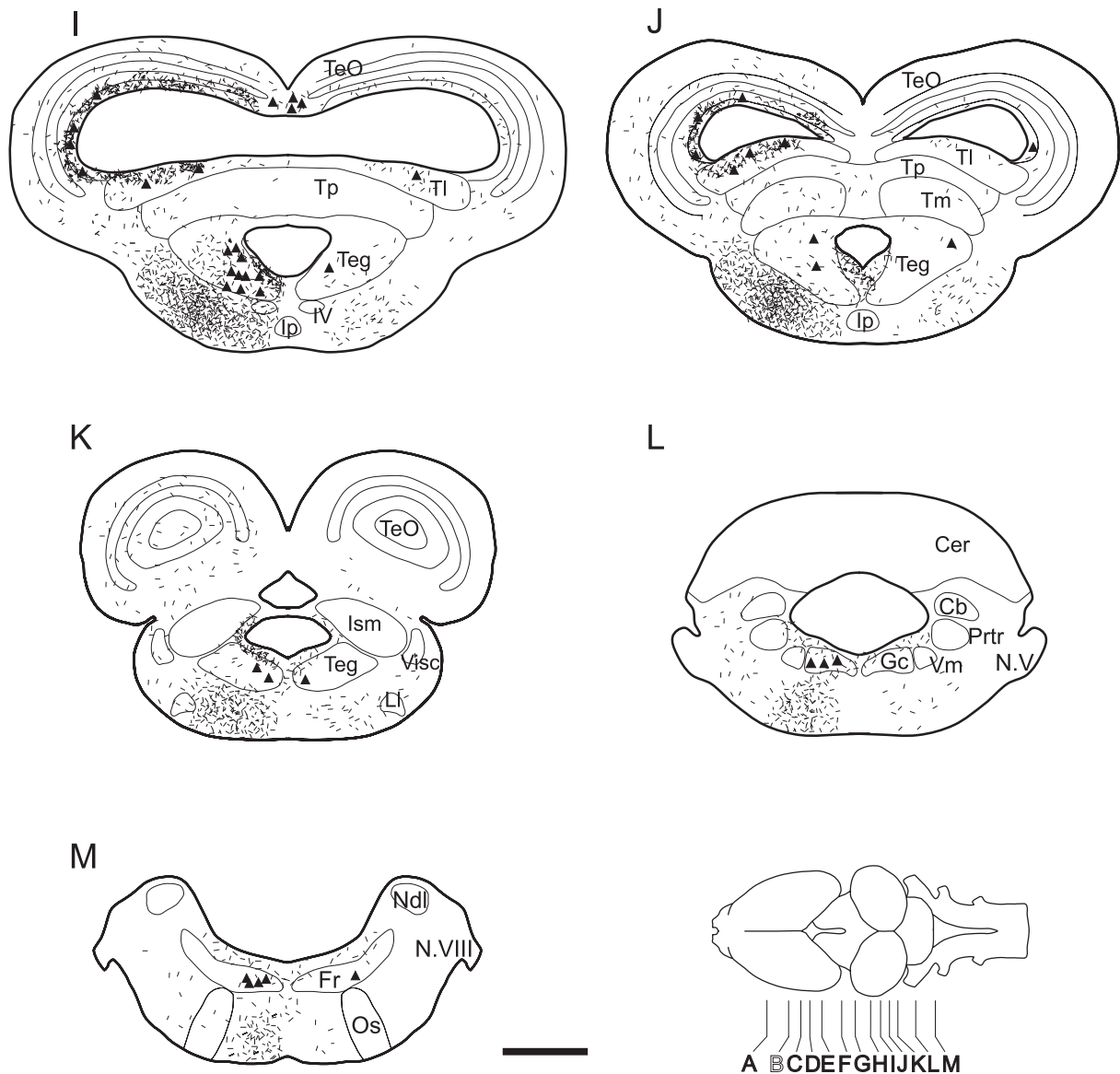


Abb. 22: Tracingstudie im posterioren Thalamus. Dargestellt sind schematische Transversalschnitte durch das Gehirn, welche die Verteilung von markierten Somata (Dreiecke) und axonalen Fasern (feine Linien) nach einer iontophoretischen Applikation von Neurobiotin im posterioren Thalamus (schwarzer Bereich in Schnittebene G, siehe Pfeil) zeigen. Die Schnittebenen sind in der Ganzhirn-Aufsicht dargestellt. Maßstab = 500 μ m, für Abkürzungen siehe Liste.

3.2.3.2. Verbindungen des centralen Thalamus

Der centrale Thalamus war mit zahlreichen Kerngebieten des Vorderhirns, des Hirnstamms und des Rückenmarks verschaltet. Tab. II (Anhang) gibt einen Überblick über die Verbindungen.

Afferenzen:

Die Ursprungsgebiete afferenter Verbindungen des centralen Thalamus waren zum größten Teil auf die ipsilaterale Seite beschränkt. Die wenigen Eingänge aus contralateralen Arealen waren nur sehr schwach.

Afferenzen aus dem Telencephalon waren insgesamt schwach. Im Pallium mediale und im Septum laterale waren bilateral sehr wenige Somata mit dem Marker gefüllt. Die vergleichsweise stärksten Afferenzen erhielt der centrale Thalamus aus dem ipsilateralen Striatum. Dabei konzentrierte sich die Mehrzahl der retrograd markierten Somata auf den äußersten caudalen Bereich des Striatum, während im übrigen Bereich des Kerngebietes nur einzelne Neuronen markiert waren (Abb. 23). Im Übergangsbereich des Striatum zum Nucleus entopeduncularis anterior waren ipsilateral sehr wenige Neuronen angefärbt, weiter caudal wurden im Nucleus entopeduncularis anterior keine markierten Neuronen gefunden.

Die stärksten diencephalen Afferenzen erhielt der centrale Thalamus aus dem ipsilateralen Nucleus entopeduncularis posterior. Im ipsilateralen Nucleus suprachiasmaticus waren einige Neuronen markiert, insbesondere im dorsalen Bereich des Kerngebietes. Im Thalamus wurden retrograd markierte Neuronen im ventrolateralen Thalamus und im rostraler Bereich des ventromedialen Thalamus gefunden. Außerdem befanden sich markierte Somata in allen Kernen des dorsalen Thalamus. Die thalamischen Afferenzen waren hauptsächlich auf die ipsilaterale Seite beschränkt. Lediglich im dorsalen Bereich des posterioren Thalamus und im caudalen bis intermediären Bereich des ventromedialen Thalamus wurden sehr wenige retrograd markierte Neuronen auf der contralateralen Seite gefunden. Afferenzen aus dem Hypothalamus erhielt der centrale Thalamus bilateral hauptsächlich aus dem rostralen Bereich des ventralen Hypothalamus. Im dorsalen Hypothalamus waren nur auf der ipsilateralen Seite vereinzelt Somata angefärbt. Im ipsilateralen posterioren Tuberculum waren ebenfalls Somata markiert, besonders im ventralen Bereich.

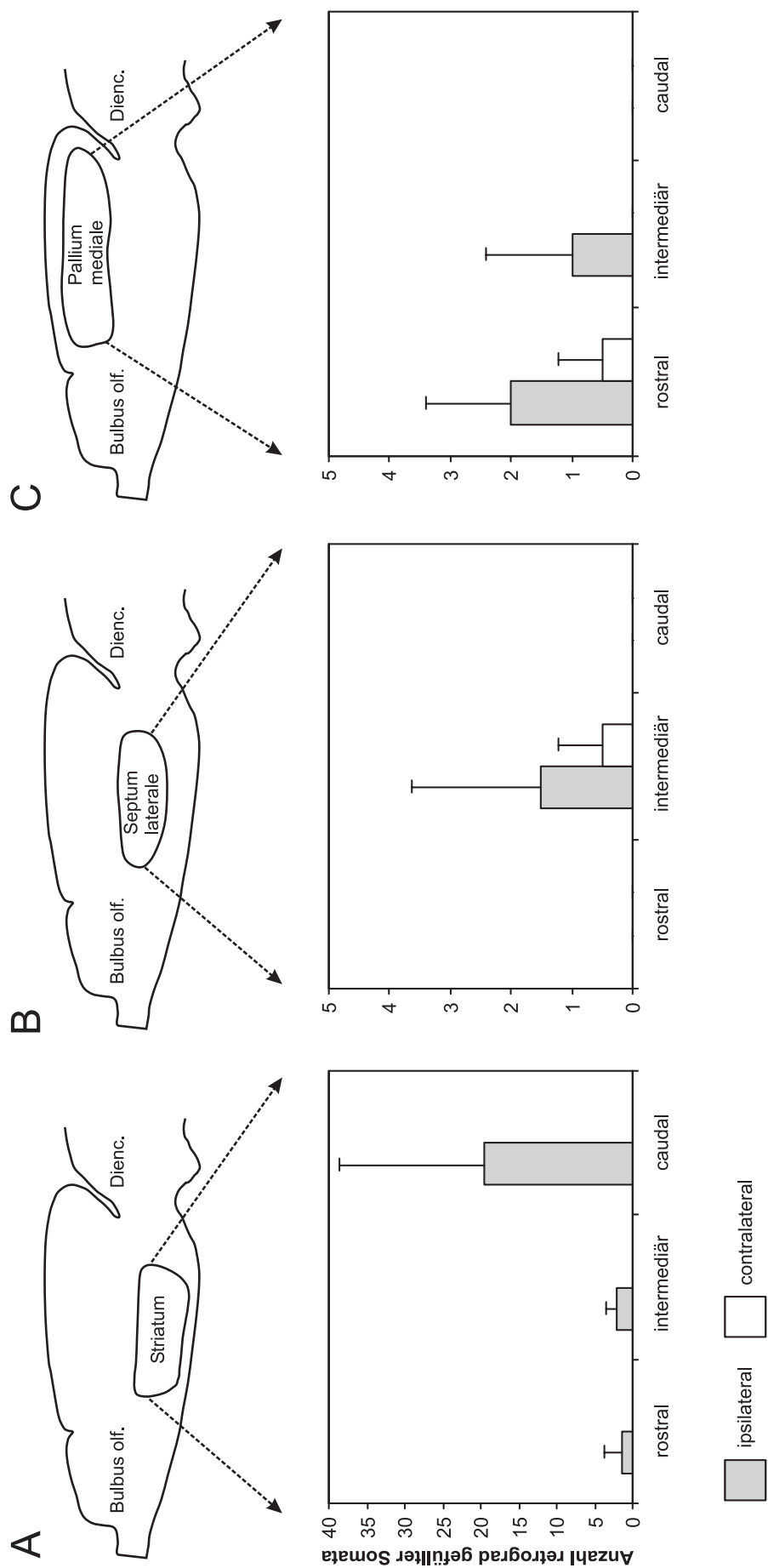


Abb. 23: Retrograd gefüllte Neuronen im Telencephalon von *Hyla versicolor* nach einer Neurobiotin-Applikation im centralen Thalamus (n=2). Dargestellt ist die Anzahl der retrograd gefüllten Somata (Mittelwerte mit Standardabweichungen) auf der ipsilateralen und der contralateralen Seite des Striatum (A), Septum laterale (B) und Pallium mediale (C) jeweils im rostralen, intermediären und caudalen Bereich des Kerngebietes. Beachte die unterschiedliche Skalierung der Ordinate.

Im praetectalen und praetoralen Grau waren ipsilateral mehrere Neuronen und contralateral nur sehr wenige Neuronen markiert. Im Tectum opticum waren ipsilateral in den ventrikelnahen Zellschichten Neuronen angefärbt. Einen starken Eingang erhielt der centrale Thalamus aus dem ipsilateralen Nucleus laminaris des Torus semicircularis, auf der contralateralen Seite waren hingegen nur einzelne Neuronen angefärbt. Afferenzen aus dem Nucleus principalis und magnocellularis waren nur sehr schwach. Im ipsilateralen anterioren und posterioren Tegmentum waren jeweils im dorsalen Bereich vergleichsweise viele Neuronen markiert. Weitere Afferenzen aus dem Hirnstamm stammten bilateral aus dem Nucleus visceralis secundarius, ipsilateral aus der Oliva superior und, sehr schwach, ipsilateral aus der Formatio reticularis und aus dem Griseum centrale.

Efferenzen:

Der centrale Thalamus wies deutlich mehr ipsilaterale als bilaterale Efferenzen auf. Falls Projektionen zur contralateralen Seite vorlagen, waren sie relativ schwach.

Sehr starke Projektionen verliefen zum ipsilateralen Striatum. Die Axone erreichten das Striatum über das laterale Vorderhirnbündel und erstreckten sich über die gesamte rostrocaudale Ausdehnung des Kerngebietes. Es handelte sich um feine Fasern mit zahlreichen Varikositäten. Auffällig war, dass die Axone im caudalen Bereich des Striatum hauptsächlich auf das laterale Neuropil beschränkt waren, während sie sich im intermediären und rostralen Bereich zunehmend in der Nähe der Somata konzentrierten (Abb. 24). Auf der contralateralen Seite wurden im caudalen Striatum ebenfalls einzelne Axone gefunden. Sie enthielten jedoch nur wenige Varikositäten und es konnte nicht eindeutig festgestellt werden, ob sie im Bereich des Striatum terminierten oder weiter nach dorsal zogen. Über das ipsilaterale Striatum hinaus zogen Fasern in das Pallium laterale, wobei die meisten Axone im Bereich der Somata des ventralen Pallium laterale terminierten. Einzelne Axone zogen weiter bis zum dorsalen Pallium laterale. Die feinen Axone waren dicht mit Varikositäten besetzt. Auch das contralaterale ventrale Pallium laterale erhielt schwache Eingänge aus dem centralen Thalamus. Auf beiden Seiten des Telencephalon erstreckten sich die Terminalien im Pallium laterale über die rostrocaudale Ausdehnung des Kerngebietes. Durch den ipsilateralen Nucleus accumbens verliefen einzelne Axone. Das Septum laterale erhielt schwache Eingänge aus dem centralen Thalamus, wobei auf der contralateralen Seite nur sehr wenige Axone gefunden wurden, die wahrscheinlich den retrograd markierten Neuronen im Septum laterale zuzuordnen

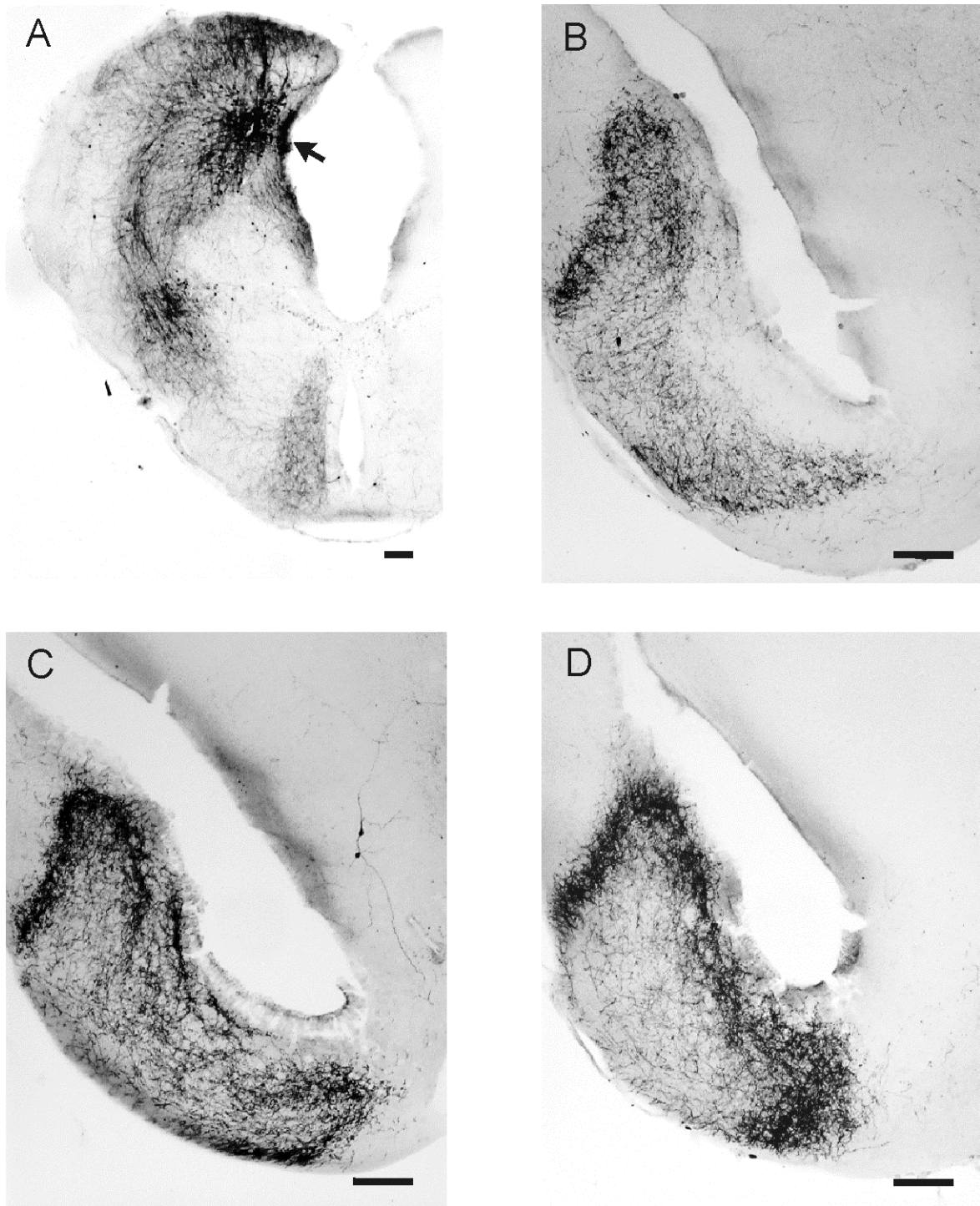


Abb. 24: Neurobiotin-Tracing im centralen Thalamus von *Hyla versicolor*. Die Mikrofotografien zeigen Transversalschnitte des Di- und Telencephalon mit den markierten zellulären Strukturen. **A** Applikationsstelle (Pfeil). In der Mitte der Applikationsstelle ist das Gewebe durch den Läsionsstrom zerstört, von den umgebenden Neuronen wurde der Tracer sehr gut aufgenommen. **B-D** Axonale Terminationsgebiete der markierten Neuronen im ipsilateralen Striatum. Beachte, dass im caudalen Striatum (B) die Terminalien hauptsächlich auf das laterale Neuropil des Striatum beschränkt sind, während sie im intermediären (C) und rostralen (D) Striatum zunehmend in das ventrikelnahе Kerngebiet ziehen. Maßstab = 100 µm.

waren. Im Septum mediale wurden bilateral nur im caudalen und intermediären Bereich axonale Terminalien gefunden, die insbesondere im caudalen Bereich in einem Netz feiner varikoser Fasern vorlagen. Durch den Nucleus des Diagonalen Bandes von Broca zogen bilateral über die gesamte rostrocaudale Ausdehnung axonale Fasern, von denen allerdings nur einzelne Varikositäten aufwiesen. Auf Höhe des Bulbus olfactorius accessorius wurden im Pallium mediale varikose Axone gefunden, die sich in den pialen Schichten des Kerngebietes verzweigten. Auf der ipsilateralen Seite zogen aus dem lateralen Vorderhirnbündel einige varikose Fasern zu den Somata des Nucleus entopeduncularis anterior, auf der contralateralen Seite wurden hingegen nur sehr wenige Fasern im Bereich dieses Kernes gefunden. In der Amygdala waren bilateral wenige Axone markiert, auf Höhe der medialen Amygdala zogen Projektionsfasern über die Commissura anterior zur contralateralen Seite des Gehirns. Die Area praeoptica anterior erhielt bilateral Eingänge aus dem centralen Thalamus, wobei insbesondere ipsilateral viele Terminalien zu sehen waren. Varikose axonale Fasern befanden sich im Neuropil zwischen der Area praeoptica anterior und dem lateralen Vorderhirnbündel, zahlreiche Fasern verzweigten sich auch innerhalb der Somata der Area praeoptica anterior, sowohl im dorsalen als auch im ventralen Bereich des Kerngebietes. Die Faserdichte war in der rostralen Area praeoptica anterior besonders hoch. Zum Nucleus praeopticus magnocellularis und zum Nucleus suprachiasmaticus zogen ebenfalls bilateral Axone, wobei contralateral nur sehr wenige Terminalien gefunden wurden.

Im Bereich des ipsilateralen Nucleus entopeduncularis posterior terminierten sehr viele Axone. Vom centralen Thalamus zog ein dickes Bündel axonaler Fasern über den anteriolateralen Thalamus zu diesem Kerngebiet, wo sich die Axone zum Teil stark verzweigten und zahlreiche Varikositäten aufwiesen. Auf der contralateralen Seite wurden hingegen nur sehr wenige varikose Fasern im Bereich des Nucleus entopeduncularis posterior gefunden. Die Projektionen zu den thalamischen Kernen waren hauptsächlich ipsilateral ausgeprägt, contralateral wurden nur einzelne axonale Fasern im centralen, anteriolateralen und posterodorsalen lateralen Thalamus beobachtet. Auf der ipsilateralen Seite waren in allen thalamischen Kernen axonale Terminalien vorhanden, wobei die stärksten Projektionen zum anteriolateralen Thalamus und zum posteroventralen lateralen Thalamus verliefen. Im ventralen Hypothalamus terminierten bilateral Axone in deutlicher Abgrenzung zum dorsalen Hypothalamus. Insbesondere ipsilateral war die Faserdichte sehr hoch und die Axone wiesen zahlreiche Varikositäten auf. Im Bereich des lateralen Hypothalamus wurden ebenfalls Axone gefunden. Im ipsilateralen posterioren

Tuberculum waren nur sehr wenige axonale Fasern zu sehen, vermutlich stammten sie nicht aus dem centralen Thalamus, sondern von benachbarten retrograd markierten Neuronen.

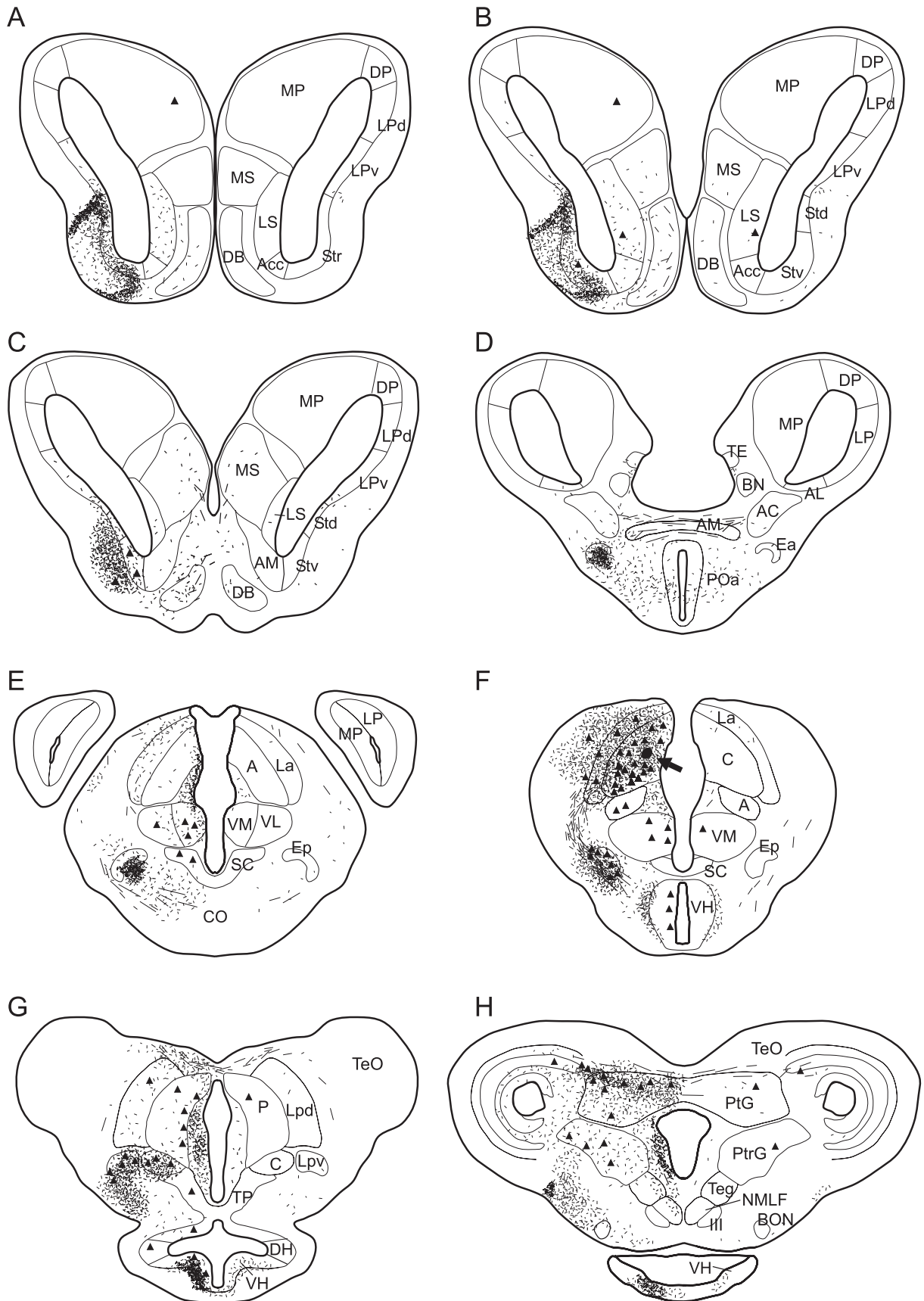
Im praetectalen und praetoralen Grau war die Faserdichte ipsilateral relativ hoch. Über die Commissura tecti zogen wenige Axone auch zur contralateralen Seite des praetectalen Grau. Im Tectum opticum verliefen die Axone insbesondere in der ventrikelnahen Zellschicht, im medialen Bereich zogen die Axone auch in weiter pial gelegene Schichten. Im Torus semicircularis wurden einige axonale Terminalien im ipsilateralen Nucleus laminaris und magnocellularis gefunden, im Nucleus principalis war ihre Dichte sehr gering. Im caudalen Mesencephalon zogen einige Fasern zur contralateralen Seite. Im Tegmentum war die Faserdichte relativ gering, insbesondere contralateral waren nur sehr wenige Axone angefärbt. Im Hirnstamm wurden außerdem axonale Terminalien im Bereich des ipsilateralen Nucleus visceralis secundarius, des Nucleus lemnisci lateralis und der Oliva superior gefunden. Über den Hirnstamm hinaus zogen Axone bis in das Rückenmark.

Angaben zu Verbindungen des centralen Thalamus mit weiteren, kleineren Kerngebieten sind Tab. II (Anhang) zu entnehmen. Abb. 25 gibt anhand repräsentativer Transversalschnitte einen Überblick über die markierten Somata und Axone.

Vergleich mit den Kontrollen:

Die Befunde der Tracingstudien im centralen Thalamus standen insgesamt in guter Übereinstimmung mit den anderen vorliegenden Tracingstudien. Kontrollapplikationen im rostralen und caudalen Striatum zeigten, dass beide Areale Eingänge aus dem centralen Thalamus erhalten, die retrograd markierten Neuronen waren im gesamten centralen Thalamus gleichmäßig verteilt. Applikationen im Pallium mediale belegten schwache reziproke Verschaltungen, die retrograd markierten Somata lagen im äußersten caudalen Bereich des centralen Thalamus. Kontrollen im Septum laterale bestätigten nur schwache Projektionen zum centralen Thalamus, gaben jedoch keine Hinweise auf Projektionen des centralen Thalamus zum Septum laterale. Applikationen im Septum mediale zeigten, dass Neuronen aus dem caudalen Bereich des centralen Thalamus in dieses Kerngebiet projizieren und dass das Septum mediale keine efferenten Projektionen zum centralen Thalamus hat. Bei Kontrollen in der Area praeoptica anterior wurden etliche retrograd markierte Neuronen im centralen Thalamus gefunden, die eine Projektion zur Area praeoptica anterior bestätigen. Kontrollen im anterioren und posterioren Thalamus standen in

sehr guter Übereinstimmung mit den Tracingstudien im centralen Thalamus und belegten schwache reziproke Verbindungen auf der ipsilateralen Seite und eine schwache Projektion des posterioren Thalamus zum contralateralen centralen Thalamus. Der Vergleich der Tracingstudien im centralen Thalamus mit den Kontrollen im Telencephalon und im Thalamus ist in den Übersichtsschemata in Abb. 37 bis Abb. 39 am Ende von Kap. 3.2. zusammengefasst.



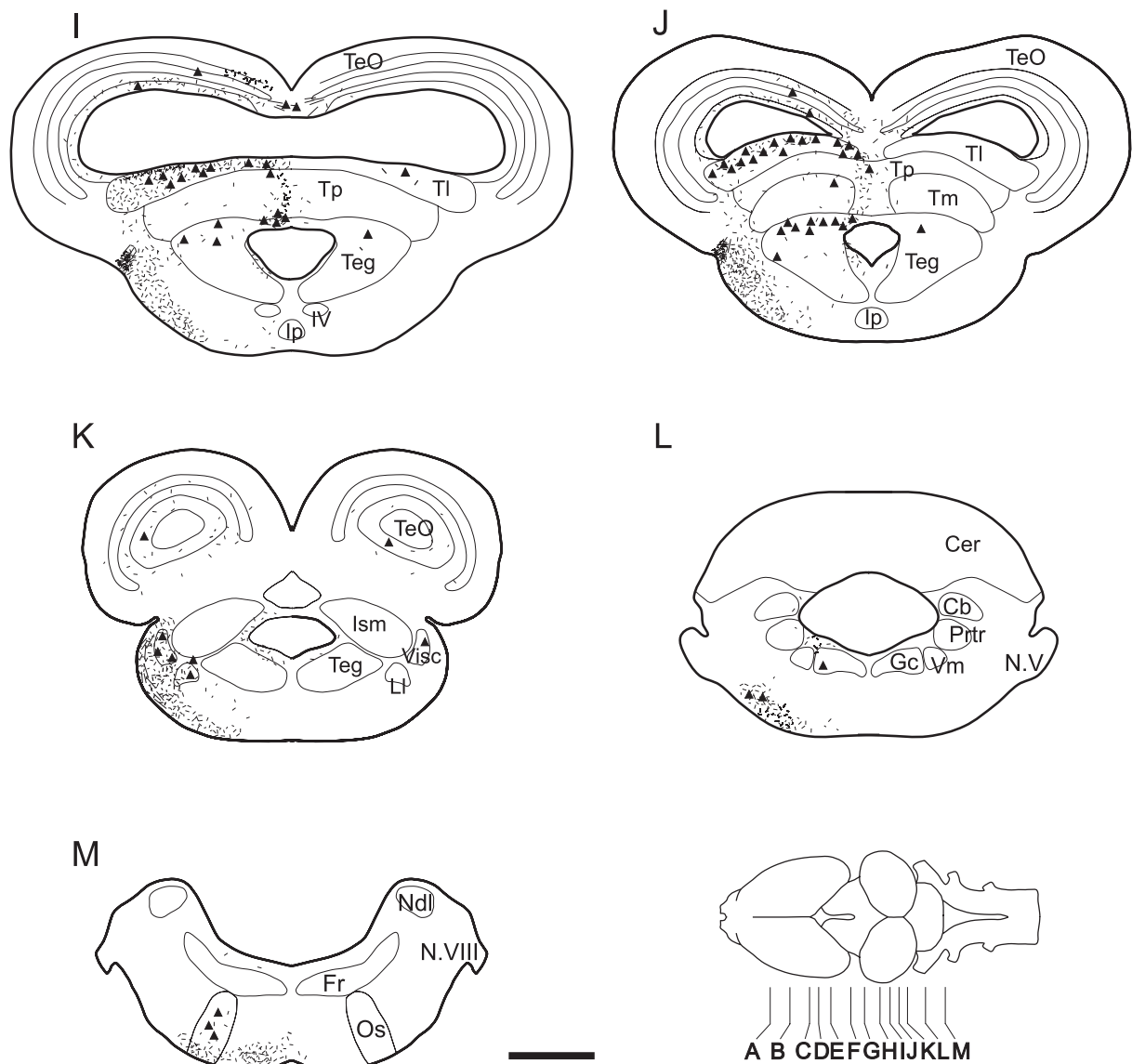


Abb. 25: Tracingstudie im centralen Thalamus. Dargestellt sind schematische Transversalschnitte durch das Gehirn, welche die Verteilung von markierten Somata (Dreiecke) und axonalen Fasern (feine Linien) nach einer iontophoretischen Applikation von Neurobiotin im centralen Thalamus (schwarzer Bereich in Schnittebene F, siehe Pfeil) zeigen. Die Schnittebenen sind in der Ganzhirn-Aufsicht gekennzeichnet. Maßstab = 500 μ m, für Abkürzungen siehe Liste.

3.2.3.3. Verbindungen des anterioren Thalamus

Der anteriore Thalamus war mit einer Vielzahl von Kerngebieten des Vorderhirns und des Hirnstamms verbunden. Tab. III (Anhang) gibt einen Überblick über die Verschaltungen.

Afferenzen:

Den überwiegenden Anteil afferenter Projektionen erhielt der anteriore Thalamus von der ipsilateralen Seite des Gehirns, contralaterale Afferenzen waren in der Regel schwächer.

Die stärksten telencephalen Afferenzen erreichten den anterioren Thalamus bilateral aus dem Septum laterale, die retrograd markierten Neuronen waren über die rostrocaudale Ausdehnung des Kerngebietes verteilt. Im Pallium mediale wurden im intermediären und rostralen Bereich bilateral wenige angefärbte Neuronen gefunden (Abb. 26). Im ventralen Pallium laterale, im Nucleus entopeduncularis anterior, in der Area praeoptica anterior und in der lateralen Amygdala waren bei einer der drei durchgeführten Tracingstudien ipsilateral einzelne Somata angefärbt.

Im Nucleus suprachiasmaticus wurden, insbesondere ipsilateral, einige retrograd markierte Neuronen beobachtet. Ipsilateral waren einige Neuronen der Habenula markiert. Im Nucleus entopeduncularis posterior waren ipsilateral viele Zellen mit dem Tracer gefüllt, insbesondere im medioventralen Bereich des Kerngebietes. Thalamische Afferenzen zum anterioren Thalamus waren insgesamt schwach. Vergleichsweise starke Afferenzen erhielt der anteriore Thalamus ipsilateral aus dem posterioren, dem ventromedialen, dem ventrolateralen und dem anteriolateralen Thalamus. Im centralen Thalamus und im Nucleus Bellonci waren nur vereinzelt Somata markiert. Im anteriolateralen Thalamus lagen die Neuronen insbesondere in demjenigen Bereich, der an den anterioren Thalamus angrenzte. Contralateral waren einzelne Neuronen im anterioren, posterioren, ventrolateralen und ventromedialen Thalamus sowie im Nucleus Bellonci angefärbt. Die im posterioren Thalamus markierten Neuronen lagen insbesondere in den inneren Schichten des Kerngebietes. Im ventralen und dorsalen Hypothalamus waren ipsilateral wenige Neuronen mit dem Tracer gefüllt. Im posterioren Tuberculum lagen auf der ipsilateralen Seite insbesondere im ventralen Bereich mehrere gefärbte Somata, contralateral waren nur wenige Neuronen markiert.

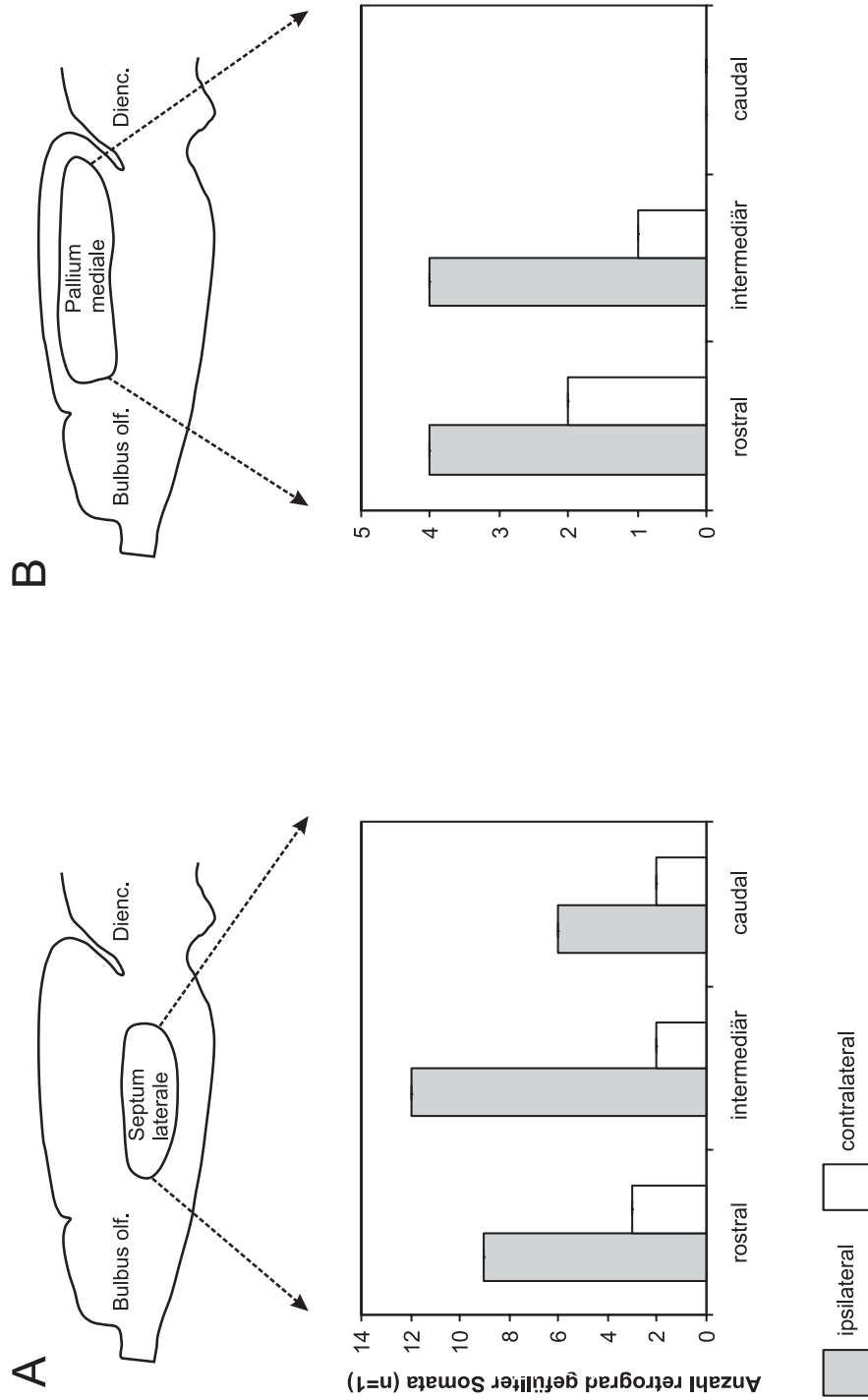


Abb. 26: Retrograd gefüllte Neuronen im Telencephalon von *Hyla versicolor* nach einer Neurobiotin-Applikation im anterioren Thalamus. Dargestellt ist die Anzahl der retrograd gefüllten Somata auf der ipsilateralen und der contralateralen Seite des Septum laterale (A) und Pallium mediale (B) jeweils im rostralen, intermediären und kaudalen Bereich des Kerngebietes. Beachte die unterschiedliche Skalierung der Ordinate.

Aus dem praetectalen Grau erhielt der anteriore Thalamus bilateral sehr starke Eingänge, im praetoralen Grau waren hingegen ipsilateral nur wenige Somata angefärbt. Im Tectum opticum waren ipsilateral wenige Neuronen der ventrikelnahen Zellschicht markiert. Innerhalb des Torus semicircularis gab es bilateral einige markierte Neuronen innerhalb des Nucleus laminaris. Im Nucleus magnocellularis wurden ipsilateral sehr vereinzelt angefärbte Somata gefunden. Im ventralen Bereich des posterioren Tegmentum waren ipsilateral zahlreiche Somata markiert, im übrigen Tegmentum waren nur wenige Neuronen angefärbt. Aus Bereichen caudal des Mesencephalon projizierten nur sehr wenige Neuronen des Griseum centrale und der Formatio reticularis zum anterioren Thalamus.

Efferenzen:

Zum Telencephalon zogen die Efferenzen des anterioren Thalamus über das mediale Vorderhirnbündel. In der Mitralzellschicht und der Granulärzellschicht des Bulbus olfactorius waren sehr vereinzelt axonale Terminalien zu finden. Die stärksten telencephalen Efferenzen wies der anteriore Thalamus zum ipsilateralen Pallium mediale und Septum laterale auf, contralateral waren die Projektionen zu beiden Kerngebieten sehr viel schwächer. Die Axone zogen vom medialen Vorderhirnbündel in der zellfreien Zone zwischen dem Pallium mediale und dem Septum mediale nach pial, bogen dort nach dorsal ab und verliefen an der pialen Grenze des Pallium mediale vorbei bis zum Pallium dorsale und zum dorsalen Pallium laterale, wobei jeweils Kollateralen zu den Somata zogen. Im ipsilateralen Pallium mediale waren im caudalen Kerngebiet im Bereich der Somata keine Terminalien zu finden, im intermediären und rostralen Bereich zogen jedoch sehr feine Axone mit zahlreichen Varikositäten in das Kerngebiet; die Dichte der Fasern nahm bis zum äußersten rostralen Bereich des Pallium mediale etwas zu. Axonale Terminalien waren auch bis zum äußersten rostralen Bereich des Pallium dorsale zu beobachten. Auf der contralateralen Seite zogen nur sehr wenige Fasern bis in den Bereich der pallialen Somata. Das ipsilaterale Septum laterale war über die gesamte rostrocaudale Ausdehnung von einem Netz sehr feiner, stark varikoser Fasern durchzogen, wobei die Faserdichte caudal etwas geringer erschien. Contralateral war die Verteilung der Fasern ähnlich, insgesamt waren die Projektionen jedoch schwächer. Im Septum mediale waren deutlich weniger Axone angefärbt, die Markierungen beschränkten sich auf die ipsilaterale Seite. Durch den Nucleus des Diagonalen Bandes von Broca zogen bilateral die Fasern des medialen Vorderhirnbündels, die verhältnismäßig dick und nicht mit Varikositäten besetzt waren. Zusätzlich waren, insbesondere im ventralen Bereich, feine axonale Fasern mit Varikositäten zu finden, wobei die

Faserdichte im contralateralen Nucleus des Diagonalen Bandes von Broca deutlich geringer war. Im ipsilateralen Striatum waren bei einem Tracing (Hv/040702) wenige axonale Fasern angefärbt, die zum Teil bis zu den Somata zogen. Projektionen zur medialen Amygdala waren nur schwach. Dabei zogen praktisch keine Axone in das Kerngebiet, einige axonale Fasern mit wenigen Varikositäten waren jedoch im angrenzenden Neuropil zu finden. Weiter caudal zogen Projektionsfasern über die Commissura anterior zur contralateralen Seite. Im Bereich des Nucleus entopeduncularis anterior wurden bilateral wenige Terminalien gefunden, wobei ihre Dichte im caudalen Bereich etwas höher war als rostral.

Die präoptische Region erhielt hauptsächlich ipsilaterale Afferenzen. Dabei zogen nur wenige Fasern in die Area praeoptica anterior. Mehr Axone terminierten im Bereich des Nucleus praeopticus magnocellularis und des Nucleus suprachiasmaticus, insbesondere im lateralen Neuropil. Im Bereich der ipsilateralen Habenula wurden einige Terminalien gefunden. Zum Nucleus entopeduncularis posterior zogen bilateral axonale Fasern, wobei ihre Dichte ipsilateral sehr stark war. Auf beiden Seiten wurden besonders viele axonale Terminalien im rostralen Bereich des Kerngebietes beobachtet. Im Thalamus waren auf der ipsilateralen Seite in allen Kerngebieten Axone markiert. Die meisten axonalen Terminalien wurden bilateral im rostralen Bereich des anteriolateralen Thalamus sowie im Nucleus Bellonci gefunden. Im centralen Thalamus war ihre Dichte hingegen besonders gering. Auf der contralateralen Seite wurden im anterioren Thalamus, im Nucleus Bellonci, im anteriolateralen, im posterodorsalen lateralen und im posteroventralen lateralen Thalamus wenige axonale Terminalien gefunden. Im Hypothalamus wurden in allen Kernen wenige Axone gefunden, die Fasern verliefen hauptsächlich im Neuropil. Im posterioren Tuberculum gab es bilateral axonale Terminalien, ipsilateral war ihre Dichte deutlich größer.

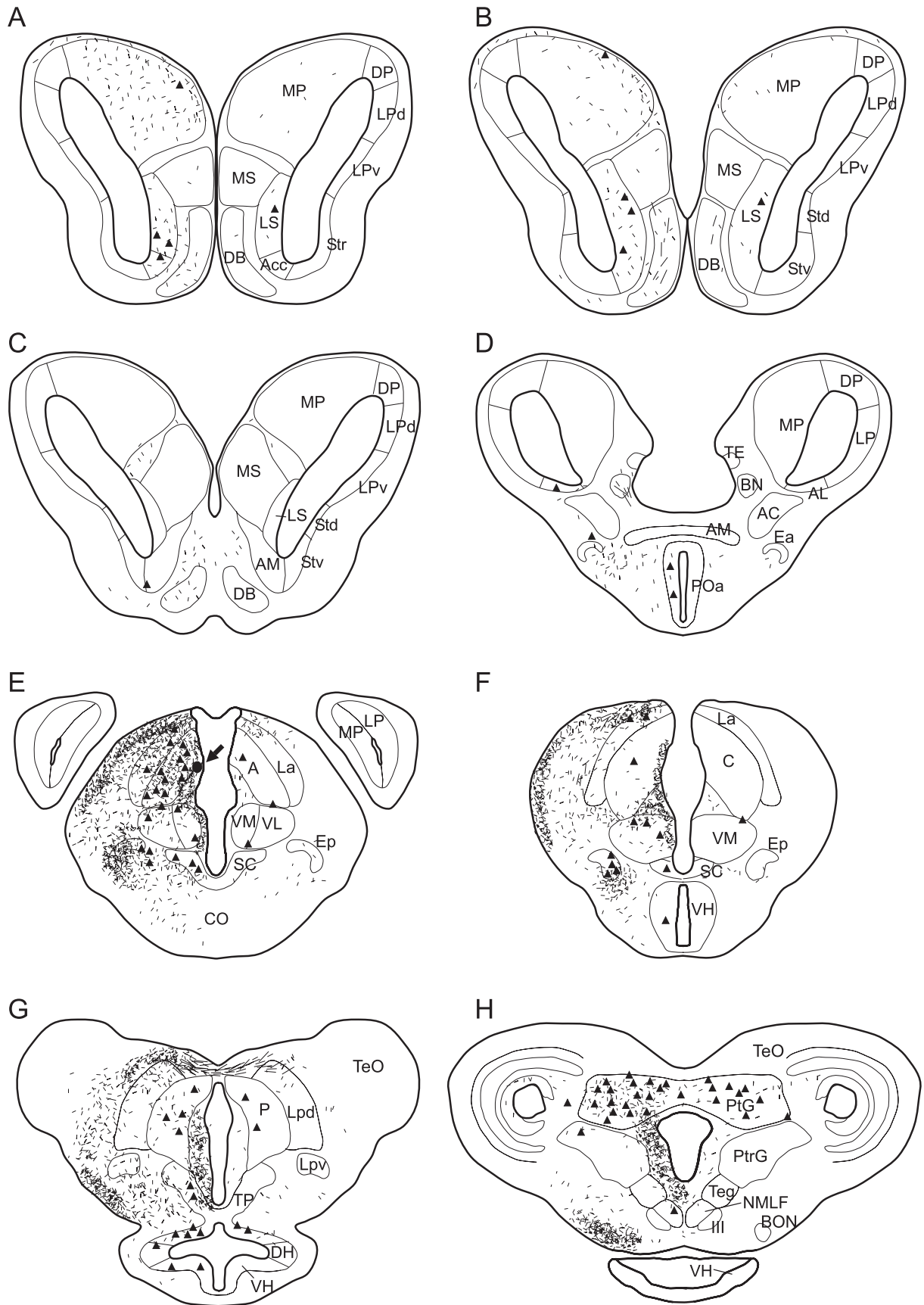
Im praetectalen Grau terminierten ipsilateral viele Axone, über die Commissura tecti zog ein Bündel axonaler Fasern zur contralateralen Seite, wo wenige Terminalien zu finden waren. Im Tectum opticum verliefen die Axone bilateral insbesondere in der ventrikelnahen Schicht. Innerhalb des Torus semicircularis wurden nur im Nucleus laminaris bilateral gefärbte Fasern gefunden. Im Tegmentum terminierten ipsilateral wenige Axone. Caudal des Mesencephalon wurden ipsilateral sehr wenige axonale Projektionen im Bereich des Nucleus visceralis secundarius, des Nucleus lemnisci lateralis und der Oliva superior gefunden.

Angaben zu weiteren Verbindungen des anterioren Thalamus mit kleineren Kerngebieten sind Tab. III (Anhang) zu entnehmen. Abb. 27 gibt anhand

repräsentativer Transversalschnitte einen Überblick über die markierten Somata und Axone.

Vergleich mit den Kontrollen:

Die Tracingstudien im anterioren Thalamus standen insgesamt in guter Übereinstimmung mit Kontrollapplikationen in anderen Kerngebieten, allerdings variierten zum Teil die Befunde zur Stärke der Verbindungen. Applikationen im Pallium mediale und im Septum laterale bestätigten bilaterale reziproke Verbindungen mit dem anterioren Thalamus. Applikationen im Septum mediale belegten afferente Projektionen aus dem anterioren Thalamus. Allerdings deutete die Anzahl retrograd markierter Neuronen im anterioren Thalamus auf einen starken Eingang hin, während bei den Tracerapplikationen im anterioren Thalamus nur wenige Terminalien im Septum mediale gefunden wurden. Applikationen im caudalen und intermediären Striatum gaben hingegen keine Hinweise auf Afferenzen aus dem anterioren Thalamus. Bei Kontrollen in der Area praeoptica anterior wurden retrograd markierte Neuronen im anterioren Thalamus gefunden, was in Übereinstimmung mit den hier beschriebenen Tracingstudien stand. Die Applikationen im centralen und posterioren Thalamus bestätigten die hier beschriebenen Befunde sehr gut. Bei Applikationen im ventromedialen Thalamus wurden hingegen gerade bei Applikationen im rostralen Bereich des Kerngebietes starke bilaterale Projektionen zum anterioren Thalamus gefunden, während bei den hier durchgeführten Tracingstudien im anterioren Thalamus lediglich im caudalen ventromedialen Thalamus sehr wenige retrograd markierte Neuronen auf der contralateralen Seite gefunden wurden. Der Vergleich der Tracingstudien im anterioren Thalamus mit den Kontrollen im Telencephalon und im Thalamus ist in den Übersichtsschemata in Abb. 37 bis Abb. 39 am Ende von Kap. 3.2. zusammengefasst.



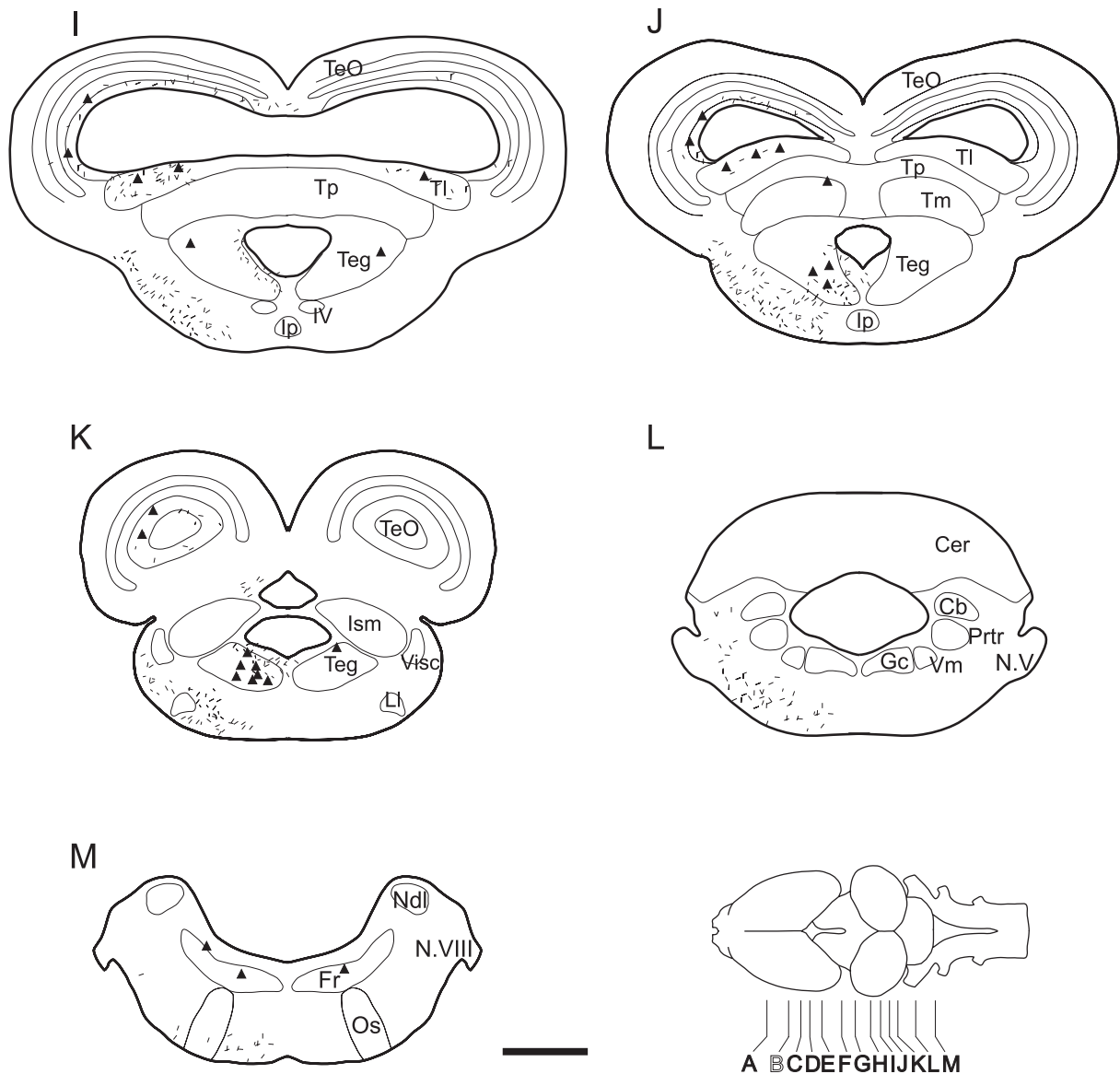


Abb. 27: Tracingstudie im anterioren Thalamus. Dargestellt sind schematische Transversalschnitte durch das Gehirn, welche die Verteilung von markierten Somata (Dreiecke) und axonalen Fasern (feine Linien) nach einer iontophoretischen Applikation von Neurobiotin im anterioren Thalamus (schwarzer Bereich in Schnittebene E, siehe Pfeil) zeigen. Die Schnittebenen sind in der Ganzhirn-Aufsicht dargestellt. Maßstab = 500 μ m, für Abkürzungen siehe Liste.

3.2.3.4. Verbindungen des ventromedialen Thalamus

Der ventromediale Thalamus war mit einer Vielzahl von Kerngebieten im Vorderhirn, Hirnstamm und Rückenmark verschaltet. Tab. IV (Anhang) gibt einen Überblick über die Verbindungen.

Afferenzen:

Striatale Afferenzen erhielt der ventromediale Thalamus ausschließlich von der ipsilateralen Seite, die Projektionsneuronen lagen im caudalen und zu einem geringeren Anteil im intermediären Striatum. Eingänge aus dem Pallium mediale und dem Septum laterale erhielt der ventromediale Thalamus von der ipsilateralen und contralateralen Seite, ipsilateral waren sie jedoch stärker. Die Projektionsneuronen lagen im Pallium mediale fast ausschließlich im rostralen Drittel, im Septum laterale waren sie insbesondere im rostralen und intermediären Bereich konzentriert (Abb. 28). Im Nucleus accumbens waren ipsilateral wenige Neuronen retrograd markiert. Afferenzen aus der medialen Amygdala waren sehr schwach. In der Area praeoptica anterior waren, insbesondere im rostralen Bereich, bilateral wenige Neuronen angefärbt. Die Afferenzen aus dem Nucleus suprachiasmaticus waren etwas stärker und ebenfalls bilateral. Im Nucleus praeopticus magnocellularis waren einzelne Neuronen im dorsalen Bereich markiert.

Im ipsilateralen Nucleus entopeduncularis posterior waren nur sehr wenige Zellen angefärbt. Innerhalb des Thalamus erhielt der ventromediale Thalamus die stärksten Afferenzen aus dem ipsilateralen ventrolateralen Thalamus und bilateral aus dem posterioren Thalamus (Abb. 29). Die Afferenzen aus dem contralateralen ventromedialen und ventrolateralen Thalamus waren nur sehr schwach oder gar nicht vorhanden. Im anterioren und centralen Thalamus waren ausschließlich ipsilateral nur wenige oder gar keine Neuronen markiert (Abb. 29). Im ipsilateralen ventralen Hypothalamus waren insbesondere im rostralen Bereich einige Somata angefärbt, auf der contralateralen Seite wurden vereinzelt Zellen gefunden. Im posterioren Tuberculum waren ipsilateral mehrere Somata markiert.

Aus dem ipsilateralen praetectalen und praetoralen Grau erhielt der ventromedialen Thalamus bei einigen Tracings starke, bei anderen nur schwache Afferenzen. Von der contralateralen Seite waren die Eingänge jeweils schwächer. Eingänge aus dem Tectum opticum waren relativ schwach. Im ipsilateralen Nucleus laminaris des Torus laminaris waren mehrere Neuronen markiert. Bei einigen Tracings waren auch im ipsilateralen Nucleus principalis und magnocellularis Neuronen angefärbt. Contralateral wurden im Nucleus laminaris nur vereinzelt angefärbte Somata

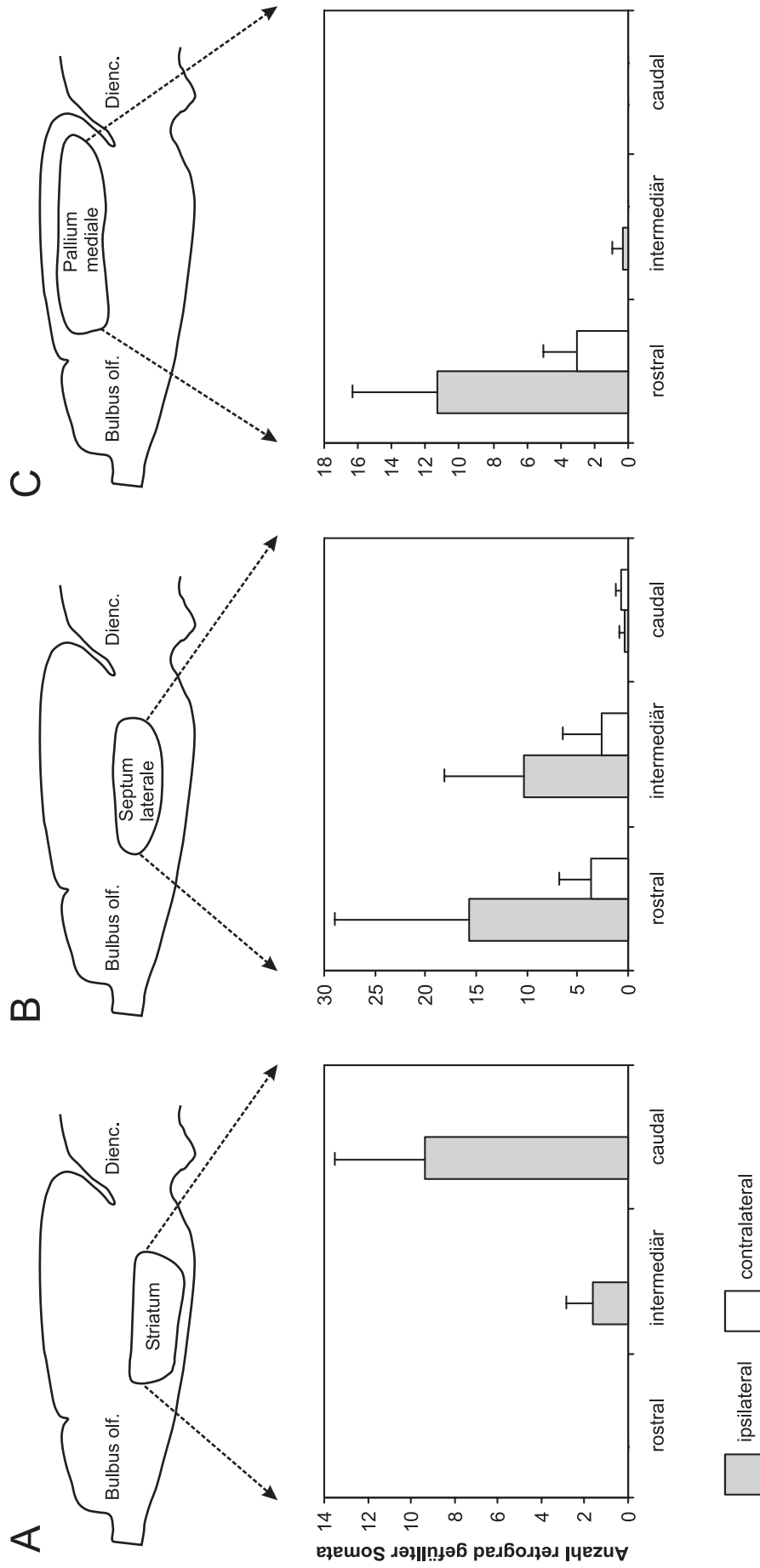


Abb. 28: Retrograd gefüllte Neuronen im Telencephalon von *Hyla versicolor* nach einer Neurobiotin-Applikation im ventromedialen Thalamus (n=3). Dargestellt ist die Anzahl der retrograd gefüllten Somata (Mittelwerte und Standardabweichungen) auf der ipsilateralen und der contralateralen Seite des Striatum (A), Septum laterale (B) und Pallium mediale (C) jeweils im rostralen, intermediären und kaudalen Bereich des Kerngebietes. Beachte die unterschiedliche Skalierung der Ordinate.

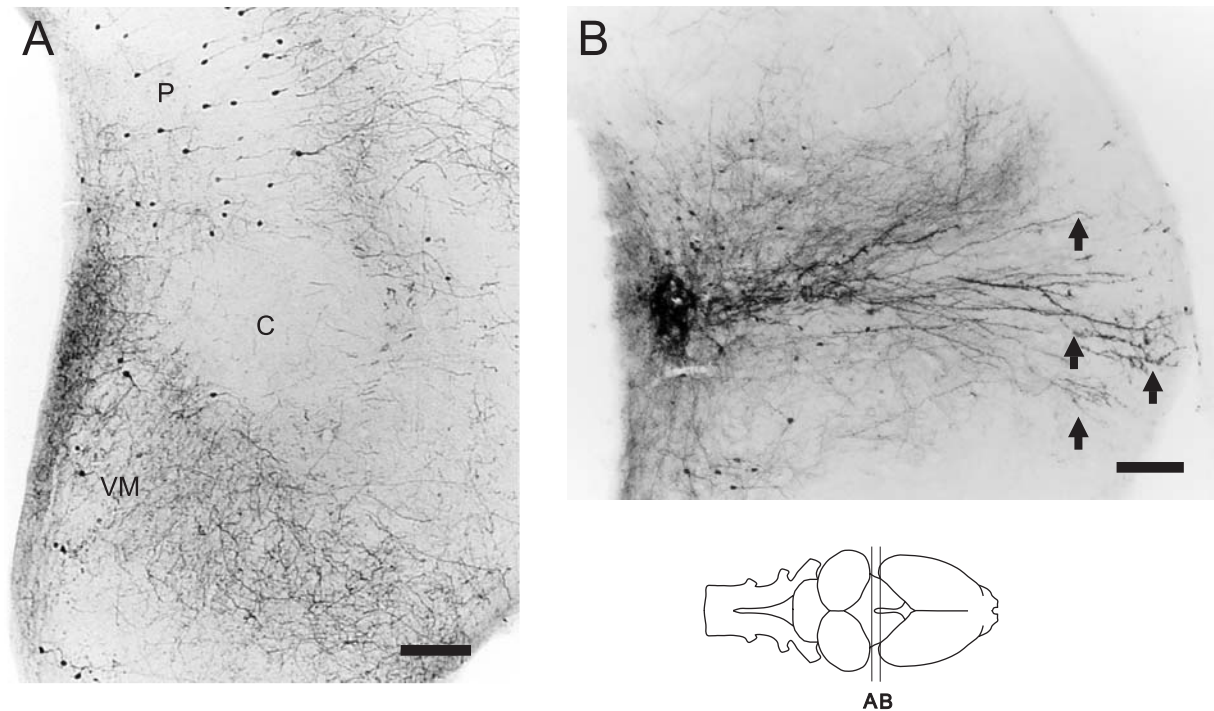


Abb. 29: Mikrofotografien von Transversalschnitten im Di- und Telencephalon von *Hyla versicolor* nach einer Neurobiotinapplikation im ventromedialen Thalamus. **A** Markierte neuronale Strukturen im posterioren, centralen und ventromedialen Thalamus auf der ipsilateralen Seite. Im posterioren Thalamus sind zahlreiche Neuronen retrograd markiert, im centralen Thalamus hingegen keine. **B** Markierte neuronale Strukturen im Bereich der Applikationsstelle. Die Dendritenbäume der Neuronen des ventromedialen Thalamus sind durch Pfeile markiert, sie erstrecken sich nach lateral bis an den Rand des Diencephalon. Die Schnittebenen sind in der Ganzhirnaufsicht gekennzeichnet. Maßstab = 100 μ m, für Abkürzungen siehe Liste.

gefunden. Afferenzen aus dem ipsilateralen Tegmentum waren vergleichsweise stark, contralateral jedoch deutlich schwächer. In der Formatio reticularis und im Griseum centrale waren ipsilateral einige und contralateral sehr wenige Somata markiert.

Efferenzen:

Im Septum mediale terminierten bilateral nur sehr wenige Axone. Im Septum laterale waren ipsilateral wenige und contralateral nur einzelne Fasern im intermediären und rostralen Bereich des Kerngebietes zu sehen. Die Axone waren in beiden septalen Kerngebieten mit vergleichsweise wenig Varikositäten besetzt. Durch den Nucleus des Diagonalen Bandes von Broca zogen ebenfalls einzelne axonale Fasern. Die überwiegende Anzahl war jedoch nicht mit Varikositäten besetzt, so dass nur von wenigen synaptischen Kontakten auszugehen ist. Bei drei Tracings verzweigten sich im äußersten rostralen Pallium mediale axonale Fasern, deren Kollateralen zum Teil

bis in das dorsale Pallium zogen. Wenige Axone verliefen im Bereich des Nucleus accumbens, zum Teil zogen sie bis in das Kerngebiet. Im ipsilateralen Striatum wurden bei zwei Tracings axonale Terminalien im caudalen Bereich des Kerngebietes gefunden. Zum Nucleus entopeduncularis anterior zogen bilateral wenige Axone, insbesondere ipsilateral terminierten feine varikose Fasern. Das Neuropil ventral der medialen Amygdala wurde bilateral von einigen Axonen durchzogen, die sich zum Teil bis einige zu den Somata erstreckten. An der ipsilateralen centralen Amygdala zogen einige stark varikose Fasern vorbei.

Im Bereich der Area praeoptica anterior terminierten bilateral einige Axone sowohl im Kerngebiet als auch im angrenzenden Neuropil, die Faserdichte war dorsal etwas stärker. Die Projektionen zum Nucleus praeopticus magnocellularis und zum Nucleus suprachiasmaticus waren auf die ipsilaterale Seite beschränkt, im Neuropil wurden jeweils etwas mehr Terminalien als innerhalb des Kerngebietes gefunden. Zum ipsilateralen Nucleus entopeduncularis posterior zogen ipsilateral zahlreiche feine, stark varikose Fasern, welche in der Nähe der Somata terminierten, jedoch nicht in das laterale Vorderhirnbündel mündeten. Contralateral terminierten nur wenige Axone in dem Kerngebiet. Im Thalamus wurden sehr viele varikose Fasern im ipsilateralen ventrolateralen Thalamus, im posterioren Thalamus und im posterodorsalen lateralen Thalamus gefunden. Der ipsilaterale posteroventrale Thalamus war von weniger Fasern durchzogen. Der ipsilaterale anteriore Thalamus erhielt bei einigen Tracingstudien ebenfalls starke Afferenzen; in jedem Fall war die Dichte axonaler Terminalien deutlich höher, als im centralen Thalamus. Die Faserdichte im anteriolateralen Thalamus war rostral höher als caudal. Nur bei einigen Tracings wurden auch Projektionen zur contralateralen Seite beobachtet. Im ventralen Hypothalamus terminierten ipsilateral bei einigen Tracings insbesondere im rostralen Bereich wenige Axone. Zum ipsilateralen posterioren Tuberculum zogen einige Fasern.

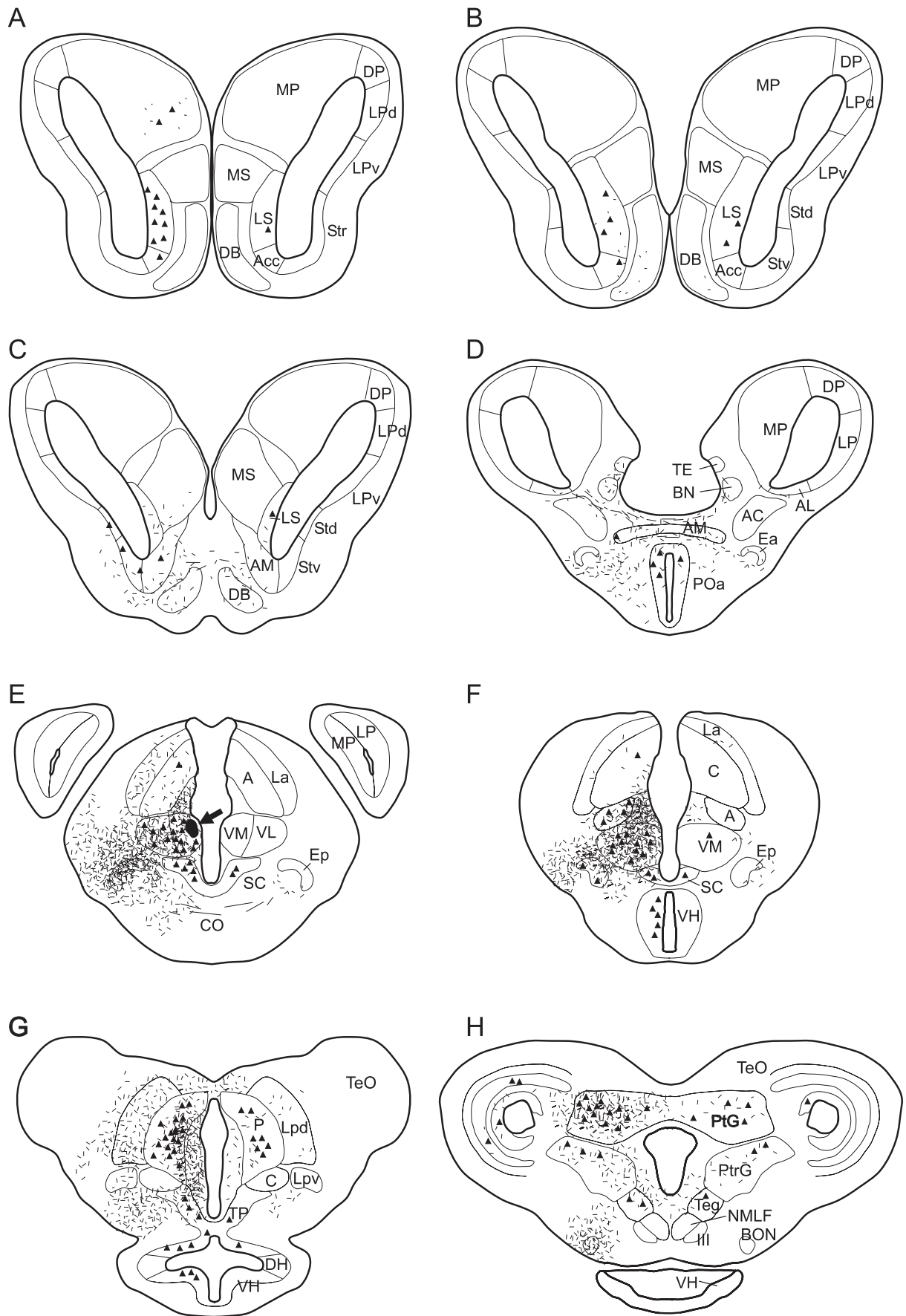
Das praetectale und praetorale Grau waren ipsilateral von einem dichten Netz axonaler Fasern durchzogen. Contralateral terminierten nur bei einigen Tracings wenige Axone. Im Tectum opticum waren ipsilateral wenige und contralateral vereinzelt Axone markiert. Im Torus semicircularis terminierten sehr viele Axone im ipsilateralen Nucleus laminaris. Auch im ipsilateralen Nucleus magnocellularis und principalis wurden wenige Terminalien gefunden. Contralateral waren in allen Kerngebieten des Torus nur sehr wenige Axone angefärbt. Das Tegmentum war ipsilateral von einem dichten Netz axonaler Fasern durchzogen, contralateral terminierten nur wenige Axone. Im Bereich des Nucleus lemnisci lateralis wurden

ipsilateral wenige axonale Terminalien beobachtet, contralateral waren bei einigen Tracings einzelne Axone angefärbt. Im Bereich der Oliva superior waren bilateral wenige axonale Fasern markiert. Innerhalb der Formatio reticularis und des Griseum centrale terminierten bilateral wenige Axone. Über den untersuchten Bereich des Gehirns hinaus zogen markierte Fasern bis in das Rückenmark.

Angaben zu Verbindungen mit kleineren Kerngebieten sind Tab. IV im Anhang zu entnehmen. Abb. 30 gibt anhand repräsentativer Transversalschnitte einen Überblick über die markierten Somata und Axone.

Vergleich mit den Kontrollen:

Insgesamt standen die Kontrollen in guter Übereinstimmung mit den hier beschriebenen Tracerstudien. Im ventromedialen Thalamus waren nur nach Tracerapplikationen im caudalen und intermediären Striatum Terminalien zu finden, was in guter Übereinstimmung mit den hier beschriebenen Befunden stand. Bei Applikationen im Striatum wurden allerdings keine retrograd markierten Neuronen im ventromedialen Thalamus gefunden, die Eingänge aus diesem Kerngebiete bestätigten. Bei Kontrollen im Septum laterale wurden reziproke Verbindungen der beiden Kerngebiete belegt. Kontrollen im Septum mediale bestätigten, dass dieses Kerngebiet nur sehr schwache Afferenzen aus dem äußersten caudalen Bereich des ventromedialen Thalamus erhält und selbst nicht dorthin projiziert. Auch die Kontrollen im Pallium mediale wiesen Afferenzen aus dem äußersten caudalen Bereich des ventromedialen Thalamus nach. Die Kontrollen im Thalamus standen insgesamt in guter Übereinstimmung mit den hier beschriebenen Befunden. Der Vergleich der Tracingstudien im ventromedialen Thalamus mit den Kontrollen im Telencephalon und im Thalamus ist in den Übersichtsschemata in Abb. 37 bis Abb. 39 am Ende von Kap. 3.2. zusammengefasst.



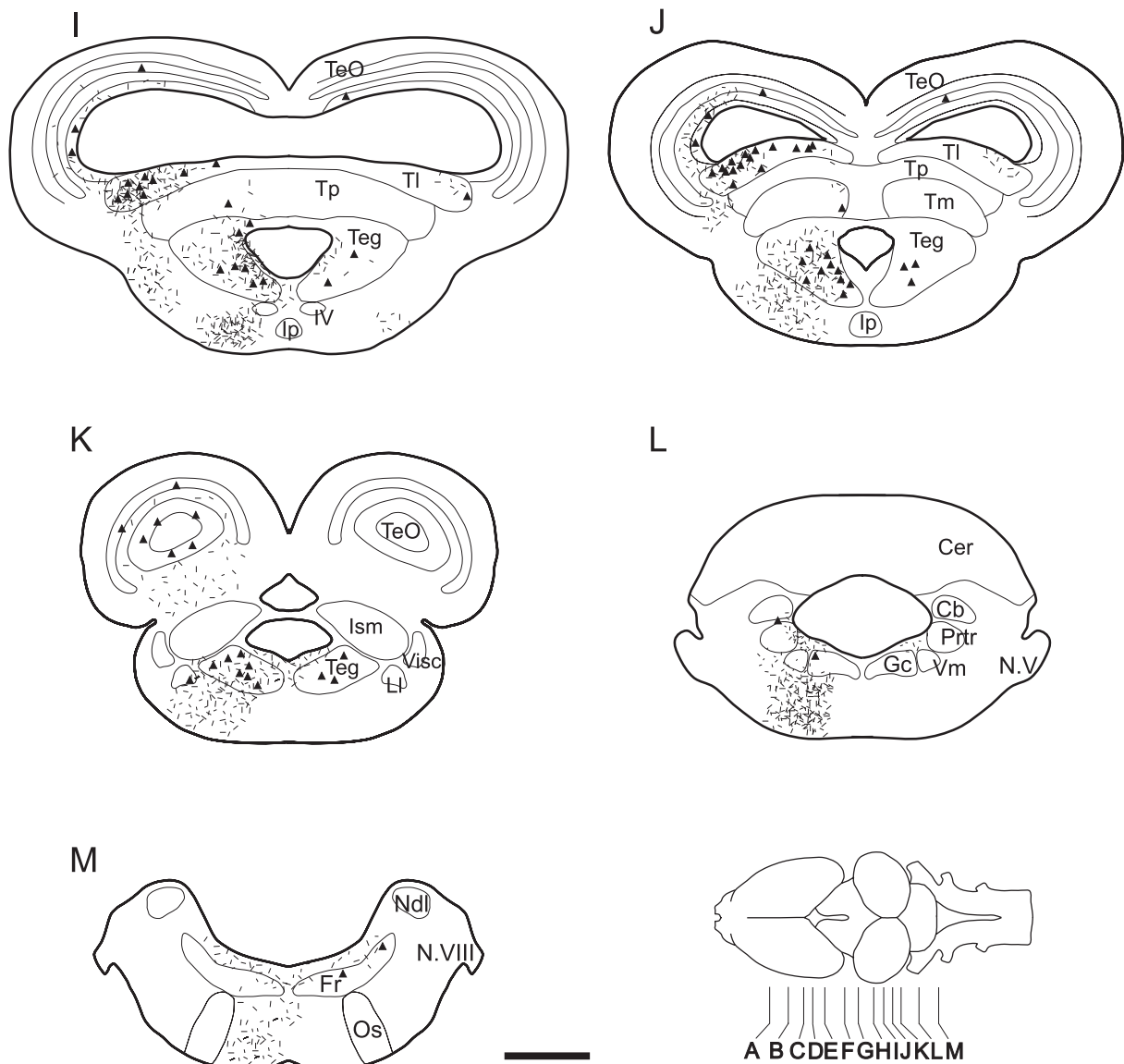


Abb. 30: Tracingstudie im ventromedialen Thalamus. Dargestellt sind schematische Transversalschnitte durch das Gehirn, welche die Verteilung von retrograd markierten Somata (Dreiecke) und anterograd markierten axonalen Fasern (feine Linien) nach einer iontophoretischen Applikation von Neurobiotin im ventromedialen Thalamus (schwarzer Bereich in Schnittebene E, siehe Pfeil) zeigen. Die Schnittebenen sind in der Ganzhirn-Aufsicht dargestellt. Maßstab = 500 μ m, für Abkürzungen siehe Liste.

3.2.4. Befunde zum Striatum

Bei Tracerapplikationen im Bereich des Striatum stellte sich heraus, dass die Projektionsmuster des rostralen Bereiches sich von denen des intermediären und caudalen Bereiches deutlich unterschieden. Aus diesem Grund werden die Projektionen der beiden Bereiche im Folgenden getrennt aufgeführt.

3.2.4.1. Verbindungen des rostralen Striatum

Die Verbindungen des rostralen Striatum waren auf wenige Kerngebiete des Tel-, Di- und Mesencephalon beschränkt. Tab. V (Anhang) gibt einen Überblick über die Verbindungen.

Afferenzen:

Die afferenten Verbindungen des rostralen Striatum stammten ausschließlich von ipsilateralen Kerngebieten. Die stärksten Afferenzen erhielt das rostrale Striatum aus dem centralen und aus dem anteriolateralen Thalamus (Abb. 31). Schwächere Afferenzen stammten aus dem posterioren Tuberculum. Vereinzelt waren auch Zellen des rostralen Pallium mediale markiert. In der Mitralzellschicht und der Granulärzellschicht des Bulbus olfactorius waren sehr wenige Somata mit dem Marker gefüllt. Innerhalb des striatalen Kerngebietes war eine heterogene Verteilung markierter Somata in der rostrocaudalen Ausdehnung des Kerngebietes zu beobachten: Im intermediären Bereich des Kerngebietes waren keine Somata markiert, während sich im caudalen Bereich retrograd gefüllte Neuronen befanden, deren Axone den Farbstoff im rostralen Striatum aufgenommen hatten (Abb. 32).

Efferenzen:

Efferente Projektionen des rostralen Striatum beschränkten überwiegend auf die ipsilaterale Seite.

In der Mitralzellschicht und der Granulärzellschicht des Bulbus olfactorius waren vereinzelt Axone markiert. Innerhalb des striatalen Kerngebietes verliefen die axonalen Fasern hauptsächlich im lateralen Neuropil, nur vereinzelt waren axonale Terminalien im Bereich der Somata zu sehen. Vom Striatum zogen axonale Projektionen mit Varikositäten zum ventralen Pallium laterale, zum Teil erstreckten sie sich auch bis in das Neuropil des dorsalen Pallium laterale. Im lateralen Neuropil des Nucleus accumbens waren einzelne varikose Fasern zu sehen.

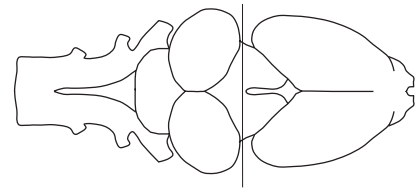
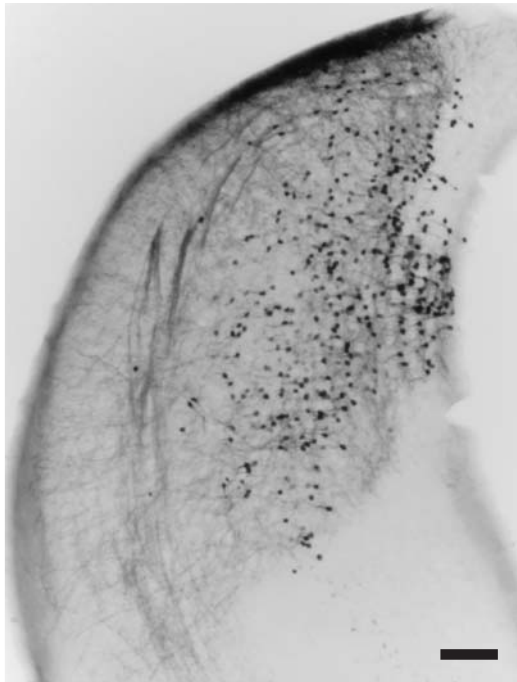


Abb. 31: Mikrofotografie eines Transversalschnittes im Diencephalon von *Hyla versicolor*. Zu sehen sind markierte neuronale Strukturen im centralen und anterolateralen Thalamus nach einer Neurobiotin-Applikation im ipsilateralen rostralen Striatum. Die Schnittebenen ist in der Ganzhirnaufsicht gekennzeichnet. Maßstab = 100 μ m, für Abkürzungen siehe Liste.

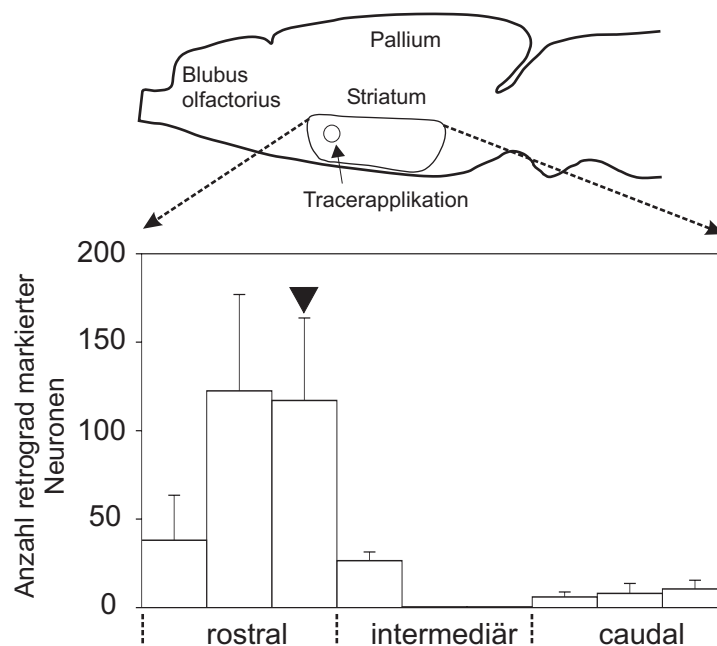


Abb. 32: Retrograd markierte Somata im Striatum nach Tracerapplikationen im rostralen Striatum (n=2). Aufgetragen ist die Anzahl retrograd markierter Somata im rostralen, intermediären und caudalen Striatum, wobei diese Abschnitte in jeweils drei Teilabschnitte untergliedert wurden. Die Applikationsstelle ist gekennzeichnet (\blacktriangledown). Zu beachten ist, dass im intermediären Bereich des Striatum keine markierten Somata gefunden wurden, während im caudalen Bereich des Kerngebietes einige Neuronen retrograd markiert waren. Im Teilabschnitt unmittelbar rostral der Applikationsstelle waren außerdem deutlich mehr Neuronen markiert, als im vergleichbaren Teilabschnitt unmittelbar caudal der Applikationsstelle.

Im Bereich des Nucleus entopeduncularis anterior gab es einige varikose Fasern, die aus dem lateralen Vorderhirnbündel heraus zu den Somata zogen. Auf Höhe der Commissura anterior zog ein dickes Bündel axonaler Fasern zur contralateralen Seite, wo sie im contralateralen Nucleus entopeduncularis anterior terminierten. Diese Projektionsfasern waren auch im Bereich der medialen Amygdala mit zahlreichen Varikositäten besetzt, so dass möglicherweise ein synaptischer Kontakt zu Neuronen dieses Kerngebietes bestand.

Im Diencephalon zogen zahlreiche Fasern aus dem lateralen Vorderhirnbündel nach dorsal zum anteriolateralen Thalamus und in das angrenzende Neuropil. Auch im centralen Thalamus waren varikose Axone zu sehen (vgl. Abb. 31). Eine Abschätzung der Faserdichte war aufgrund der zahlreichen retrograd markierten Somata in diesen Kerngebieten schwierig.

Im Mesencephalon war im posterioren Tegmentum ein kleiner Bereich zwischen dem dorsalen und ventralen Teil des Kerngebietes mit einem dichten Netz sehr feiner axonaler Fasern mit zahlreichen Varikositäten durchzogen.

Vergleich mit den Kontrollen:

Die Tracingstudien im rostralen Striatum standen in Übereinstimmung mit den Kontrollapplikationen in anderen Kerngebieten. Bei Tracerapplikationen im centralen, posterioren und ventromedialen Thalamus wurden im rostralen Striatum nur sehr wenige retrograd markierte Neuronen gefunden, die auf sehr schwache Projektionen aus diesem Bereich des Striatum hinweisen. Tracerapplikationen im centralen Thalamus zeigten, dass die Axone dieses Kerngebietes im rostralen Striatum hauptsächlich im Bereich der Somata terminierten, im Neuropil war die Faserdichte, im Vergleich zum caudalen und intermediären Striatum, hingegen gering (vgl. Abb. 24). Bei Tracingstudien im Pallium mediale, Septum laterale, Septum mediale, Torus laminaris und im posterioren Tuberculum wurden im rostralen Striatum keine axonalen Terminalien gefunden. Damit wurde bestätigt, dass diese Kerngebiete nicht zum rostralen Striatum projizieren.

3.2.4.2. Verbindungen des caudalen Striatum

Das caudale Striatum zeichnete sich im Vergleich zum rostralen Striatum durch wesentlich mehr Verschaltungen mit anderen Gehirngebieten aus. Seine Projektionen erstreckten sich bis in das Rückenmark. Tab. VI (Anhang) gibt einen Überblick über die Verbindungen des caudalen Striatum.

Afferenzen:

Das caudalen Striatum erhielt afferente Projektionen hauptsächlich von ipsilateralen Kerngebieten, lediglich im caudalen Striatum und auf Höhe des contralateralen Nucleus cerebelli wurden einige retrograd markierte Neuronen auf der contralateralen Seite gefunden.

Wie das rostrale Striatum erhielt das caudale Striatum die Hauptafferenzen aus dem centralen und dem anteriolateralen Thalamus der ipsilateralen Seite. Ebenfalls vergleichbar waren schwache Projektionen aus dem Pallium mediale, dem ventralen Hypothalamus und dem posterioren Tuberculum. Darüber hinaus waren bei Tracerapplikationen im caudalen Striatum einzelne Somata im caudalen Bereich des contralateralen Striatum, im ventralen Pallium laterale, im Nucleus fasciculi longitudinalis medialis und im Torus laminaris angefärbt. Außerdem waren zahlreiche Somata im Nucleus cerebelli und in einem Kerngebiet zwischen dem Nucleus cerebelli und dem Nucleus praetrigeminalis markiert.

Innerhalb des Striatum waren retrograd markierte Somata im gesamten Bereich des Kerngebietes zu finden. Bezogen auf die Applikationsstelle waren im angrenzenden rostralen Bereich jeweils deutlich mehr Neuronen angefärbt als im entsprechenden caudalen Bereich (Abb. 33).

Efferenzen:

Im Gegensatz zum rostralen Striatum wies das caudale Striatum auch Efferenzen zur contralateralen Seite des Gehirns auf. Diese waren generell schwächer als ipsilateral.

In der Mitralzellschicht und der Granulärzellschicht des Bulbus olfactorius waren sehr vereinzelt Axone markiert. Innerhalb des ipsilateralen Striatum waren axonale Terminalien über die gesamte rostrocaudale Ausdehnung des Kerngebietes zu beobachten. Die Fasern verliefen hauptsächlich im lateralen Neuropil, es zogen jedoch auch Fasern bis zu den Somata. Zwischen den Somata und dem Neuropil lag ein Band besonders dichter axonaler Terminalien. Im contralateralen Striatum verliefen Axone zum Teil bis zum rostralen Drittel des Kerngebietes, auch hier wurden die axonalen Terminalien hauptsächlich im Neuropil gefunden.

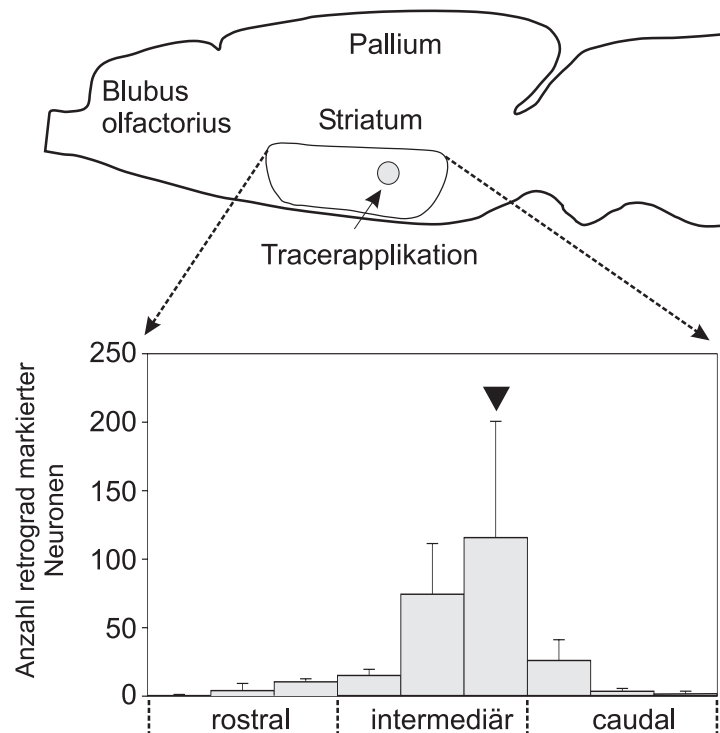


Abb. 33: Retrograd markierte Somata im Striatum nach Tracerapplikationen im caudalen Bereich des Striatum (n=3). Aufgetragen ist die Anzahl retrograd markierter Somata im rostralen, intermediären und caudalen Striatum, wobei jeder dieser Abschnitte in drei Teilabschnitte unterteilt wurde. Die Applikationsstelle ist gekennzeichnet (▼). Zu beachten ist, dass in dem Teilabschnitt unmittelbar rostral der Applikationsstelle deutlich mehr Neurone markiert waren, als im vergleichbaren Teilabschnitt unmittelbar caudal der Applikationsstelle.

In der medialen, centralen und lateralen Amygdala wurden axonale Terminalien gefunden. Über die Commissura anterior zogen zahlreiche Fasern zur contralateralen Seite. Im Bereich des Nucleus entopeduncularis anterior wurden bilateral Fasern gefunden, im Vergleich zu den Tracingstudien im rostralen Striatum war die Faserdichte stärker. Aus dem lateralen Vorderhirnbündel zogen ipsilateral feine varikose Fasern zur ipsilateralen Area praeoptica anterior, auf der contralateralen Seite war die Faserdichte geringer.

Im Kerngebiet des Nucleus entopeduncularis posterior wurden bilateral neben den Projektionsfasern des lateralen Vorderhirnbündels auch feinere, varikose Fasern beobachtet. Die Einschätzung der Dichte war jedoch aufgrund der zahlreichen Projektionsfasern sehr schwierig. Aus dem lateralen Vorderhirnbündel zogen Axone bilateral über den lateralen Hypothalamus und zum rostralen Bereich des ventralen Hypothalamus. Im dorsalen Hypothalamus wurden nur sehr wenige Terminalien

gefunden. Im caudalen Hypothalamus waren keine axonalen Fasern markiert. Im Thalamus wurden, mit Ausnahme des caudalen ventromedialen Thalamus, ausschließlich ipsilateral Terminalien gefunden. Terminalien befanden sich im ventromedialen und ventrolateralen Thalamus und - mit Ausnahme des anterioren Thalamus - in allen Kerngebieten des dorsalen Thalamus. Das posteriore Tuberculum war ipsilateral sowohl im lateralen Neuropil als auch innerhalb der Somata von einem Netz feiner, stark varikoser Fasern durchzogen. Im caudalen Bereich dieses Kerngebietes zogen Fasern über die Mediallinie zur contralateralen Seite, wo sie sich innerhalb der Somata verzweigten.

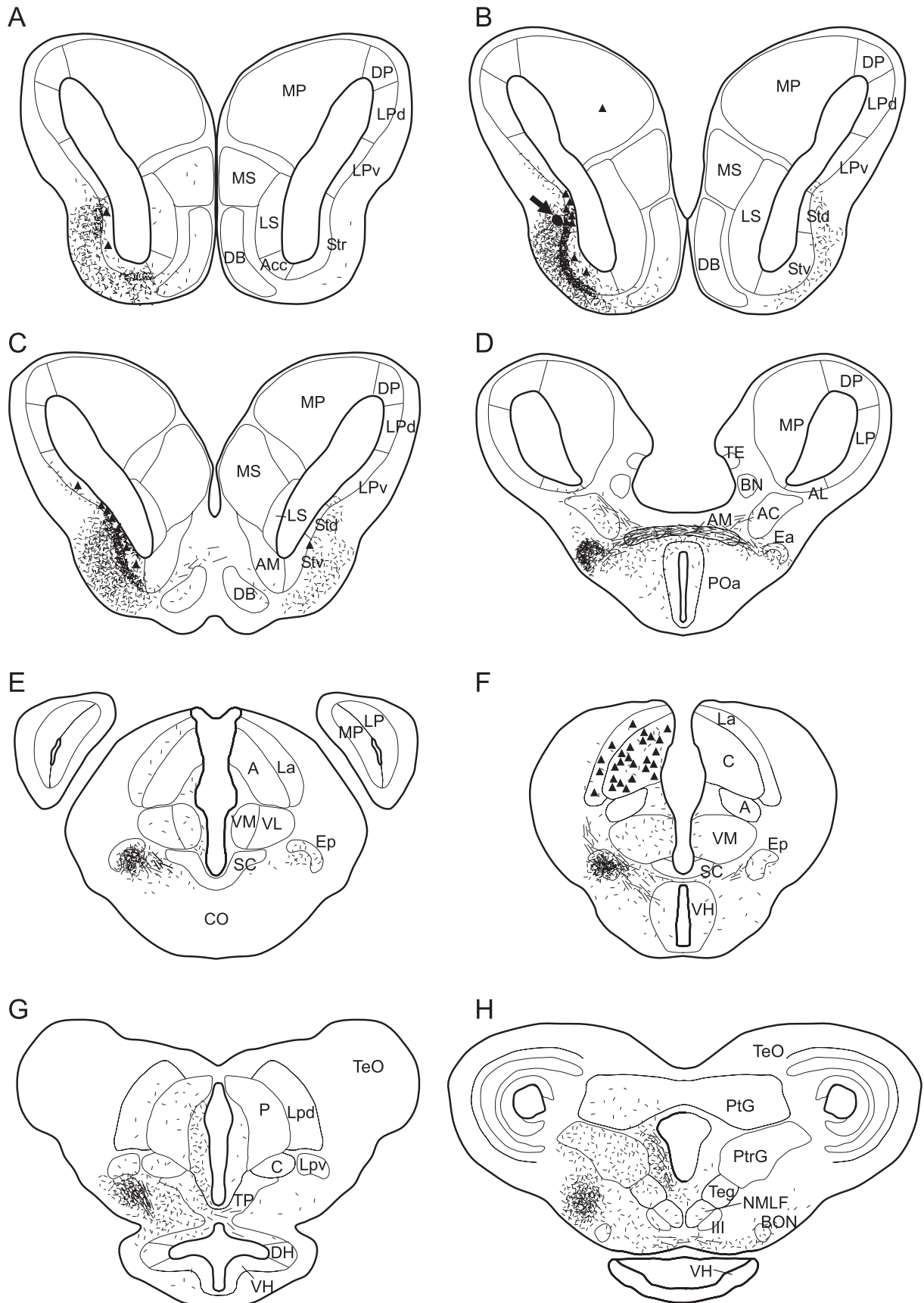
Ein dichtes Netz stark varikoser Fasern durchzog das ipsilaterale praetorale Grau, sehr viel weniger Fasern terminierten im praetectalen Grau. Im Torus semicircularis wurden nur wenige Axone gefunden, axonale Terminalien befanden sich insbesondere im Nucleus laminaris. Starke Afferenzen erhielt hingegen das ipsilaterale Tegmentum. Auf der contralateralen Seite terminierten deutlich weniger Axone. Ventromedial des Nucleus isthmi wurden auf der ipsilateralen Seite zahlreiche axonale Fasern mit vielen Varikositäten gefunden. Ein dichtes Netz axonaler Terminalien wurde auch im Bereich des ipsilateralen Nucleus cerebelli und dem ventral angrenzenden Kerngebiet beobachtet. Zahlreiche Terminalien befanden sich im ipsilateralen Nucleus praetrigeminalis. Im Bereich des ipsilateralen Nucleus lemnisci lateralis und der ipsilaterale Oliva superior verliefen wenige Axone. Die Somata der dorsolateralen Bereiche der ipsilateralen Formatio lateralis waren stark innerviert. Contralateral waren ähnliche Projektionsmuster zu beobachten, allerdings die Faserdichte wesentlich geringer.

Angaben zu weiteren Verbindungen mit kleineren Kerngebieten sind Tab. VI (Anhang) zu entnehmen. Abb. 34 gibt anhand repräsentativer Transversalschnitte einen Überblick über die markierten Somata und Axone.

Vergleich mit den Kontrollen:

Die Befunde bei Tracerapplikationen im caudalen und intermediären Striatum wurden durch die Kontrollapplikationen in anderen Kerngebieten bestätigt. Es konnte gezeigt werden, dass bei Tracerapplikationen im centralen, posterioren und ventromedialen Thalamus retrograd gefüllte Somata insbesondere im caudalen Bereich des Striatum lagen. Die axonalen Projektionen des centralen Thalamus verliefen hauptsächlich im lateralen Neuropil des caudalen Striatum, nur sehr wenige Axone terminierten im Bereich der Somata (vgl. Abb. 24). Bei Kontrollapplikationen in der Area praeoptica anterior wurden wenige retrograd markierte Neuronen im caudalen und

intermediären Striatum gefunden, die eine schwache direkte Projektion des Striatum in die Area praeoptica anterior belegten. Bei Kontrollen im Torus laminaris wurden axonale Terminalien im caudalen Striatum beobachtet, die eine schwache afferente Projektion aus dem Torus semicircularis bestätigten. Bei Applikationen im posterioren Tuberculum wurden axonale Terminalien im caudalen und intermediären Striatum sowie retrograd markierte Somata im caudalen Striatum gefunden, wodurch eine reziproke Verbindung zwischen den beiden Kerngebieten nachgewiesen wurde. Bei Applikationen im Septum laterale und im Septum mediale wurden anhand markierter Axone zusätzliche Hinweise auf eine schwache Projektion zum caudalen Striatum gefunden, während hier keine Somata in den septalen Kernen markiert waren. Allerdings wurden keine Tracingstudien im Bereich des äußersten caudalen Striatum durchgeführt, in dem die Axone der septalen Kerne hauptsächlich terminierten. Der Vergleich der Tracingstudien im Striatum mit den Kontrollen im Telencephalon und im Thalamus ist in den Übersichtsschemata in Abb. 37 bis Abb. 39 am Ende von Kap. 3.2. zusammengefasst.



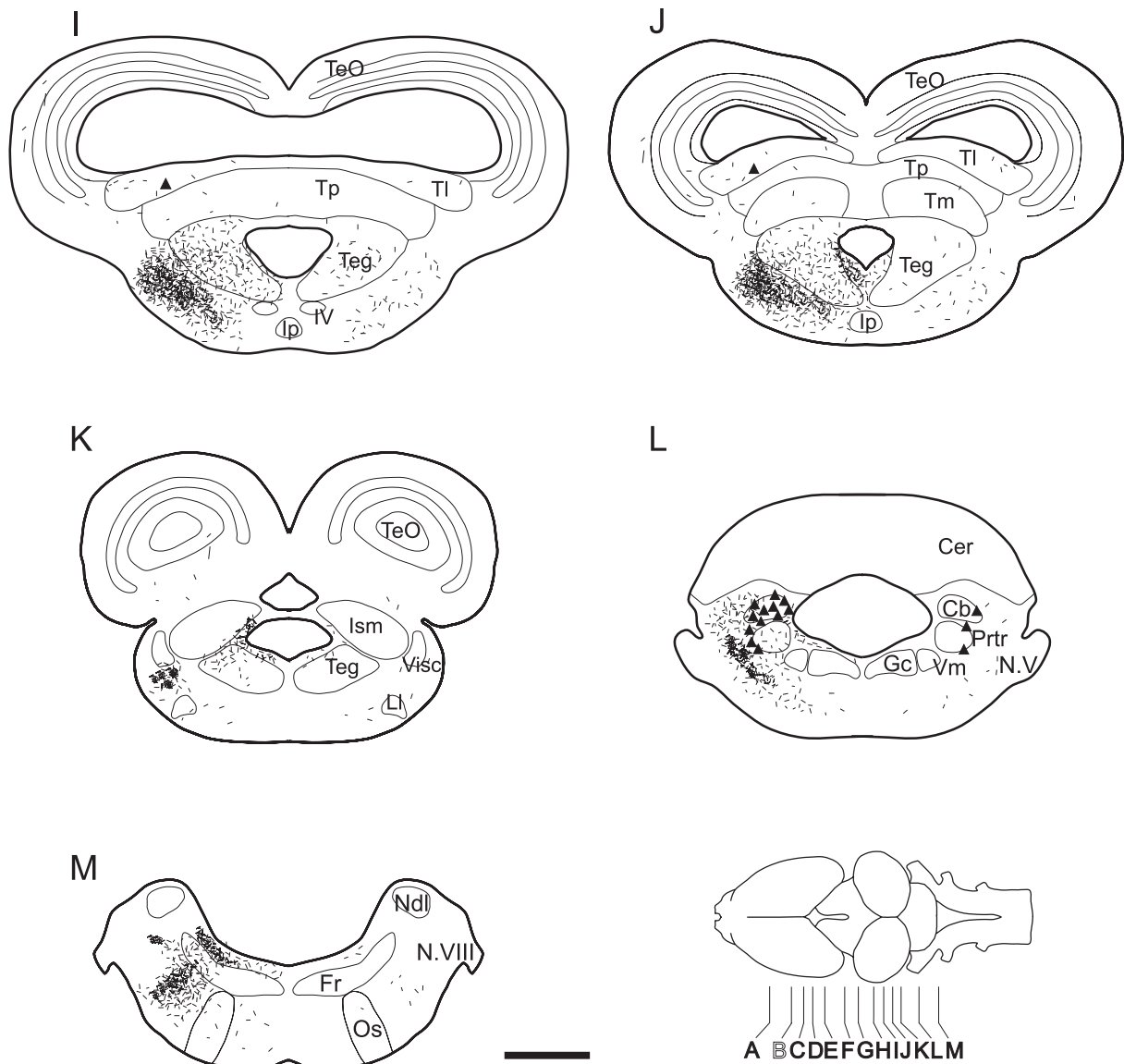


Abb. 34: Tracingstudie im Striatum. Dargestellt sind schematische Transversalschnitte durch das Gehirn, welche die Verteilung von markierten Somata (Dreiecke) und axonalen Fasern (feine Linien) nach einer iontophoretischen Applikation von Neurobiotin im Striatum dorsale (schwarzer Bereich in Schnittebene B, siehe Pfeil) zeigen. Die Schnittebenen sind in der Ganzhirn-Aufsicht dargestellt. Maßstab = 500 μ m, für Abkürzungen siehe Liste.

3.2.5. Befunde zu den septalen Kernen

Zur Untersuchung der Verbindungen der septalen Kerne wurden Tracingstudien im Septum laterale und im Septum mediale durchgeführt und mit den Tracingstudien in den übrigen untersuchten Kerngebieten verglichen. Tracingstudien im Nucleus des Diagonalen Bandes von Broca wurden nicht durchgeführt. Durch dieses Kerngebiet zieht das mediale Vorderhirnbündel, so dass die in ihm verlaufenden Projektionsfasern zum Septum mediale, Septum laterale und Pallium mitangefärbt worden wären¹. Die Tracingstudien in den anderen untersuchten Kerngebieten gaben jedoch Hinweise auf Verbindungen des Nucleus des Diagonalen Bandes von Broca, so dass auch für dieses Kerngebiet eine Übersichtstabelle angefertigt wurde.

3.2.5.1. Verbindungen des Septum laterale

Das Septum laterale war mit einer Reihe von Kerngebieten im Vorderhirn und im Hirnstamm verschaltet, wobei der überwiegende Teil der Verschaltungen auf das Tel- und Diencephalon beschränkt war. Tab. VII (Anhang) gibt einen Überblick über die Verschaltungen.

Afferenzen:

Kerngebiete mit afferenten Projektionen zum Septum laterale lagen im Telencephalon fast ausschließlich auf der ipsilateralen Seite, im Diencephalon hingegen meistens auf beiden Seiten des Gehirns.

Das Septum laterale erhielt relativ schwache Eingänge aus dem ipsilateralen Pallium mediale, die retrograd markierten Neuronen waren über die gesamte rostrocaudale Ausdehnung des Kerngebietes verteilt. Contralateral wurden bei einigen Tracings im caudalen und intermediären Bereich des Pallium mediale sehr wenige gefärbte Neuronen gefunden. Bei einigen Tracings waren einzelne Neuronen des ventralen Pallium laterale markiert, sie lagen im caudalen Bereich des Kerngebietes. Im Nucleus accumbens wurden ipsilateral einige angefärbte Neuronen gefunden. In der medialen Amygdala waren wenige Somata markiert. Bei einigen Tracings waren auch in der lateralen Amygdala einzelne Somata mit dem Farbstoff gefüllt. Eingänge aus der präoptischen Region waren schwach. In der Area praeoptica anterior lagen

¹ Das mediale Vorderhirnbündels verläuft auch durch das Septum mediale. Bei Tracerapplikationen auf Höhe dieses Kerngebietes konnten jedoch die Projektionen des medialen Vorderhirnbündels zum Septum laterale von denen zum Septum mediale und zum Pallium unterschieden werden. Ein Vergleich der Tracingstudien im Septum mediale und im Pallium mediale mit den Kontrollen erlaubte wiederum eine Differenzierung der Projektionen zu diesen beiden Kerngebieten.

die Projektionsneuronen in der dorsalen Hälfte des Kerngebietes. Thalamische Afferenzen erhielt das Septum laterale bilateral aus dem anterioren Thalamus und aus dem caudalen Bereich des ventromedialen Thalamus. Im ventralen Hypothalamus und im dorsalen Hypothalamus waren bilateral einzelne Zellen retrograd markiert. Etwas mehr retrograd markierte Somata lagen bilateral im posterioren Tuberculum. Im Mesencephalon wurden keine retrograd markierten Neuronen gefunden. Bei einigen Tracingstudien waren sehr wenige Somata der *Formatio reticularis* mit dem Farbstoff gefüllt.

Efferenzen:

Die telencephalen Efferenzen des Septum laterale waren hauptsächlich auf die ipsilaterale Seite beschränkt, während sie caudal der Commissura anterior bilateral verliefen und auf beiden Seiten des Gehirns in der Regel etwa gleich stark waren.

Die stärksten telencephalen Efferenzen wies das Septum laterale zum ipsilateralen Nucleus des Diagonalen Bandes von Broca auf. Auch in der Granulärzellschicht des Bulbus olfactorius, im Pallium mediale, im Septum mediale und im Nucleus accumbens wurden ipsilateral feine varikose Fasern gefunden. Im ipsilateralen caudalen Striatum zogen sehr wenige Fasern durch das laterale Neuropil. Contralateral waren sehr wenige Terminalien im Septum laterale zu sehen. In der medialen Amygdala waren sowohl im Bereich der Somata als auch im ventralen Neuropil feine varikose Fasern zu finden. Über die Commissura anterior und die Commissura pallii zogen axonale Fasern zur contralateralen Seite. Im Bereich des caudalen Nucleus entopeduncularis anterior terminierten nur wenige Fasern mit verhältnismäßig wenigen Varikositäten.

In der präoptischen Region war die Faserdichte bilateral relativ hoch. Feine Axone terminierten besonders im lateralen Neuropil der Area praeoptica anterior, des Nucleus suprachiasmaticus und des Nucleus praeopticus magnocellularis. Zur Habenula zogen ipsilateral ebenfalls feine Axone mit Varikositäten. Auf Höhe des centralen Thalamus zogen bilateral axonale Fasern von ventral bis zu den Somata des Nucleus entopeduncularis posterior, sie enthielten nur wenige varikose Verdickungen. Von den dorsalen Thalamuskernen erhielten der anteriore, der anteriolaterale, der centrale, der posteriore, der ventrolaterale, der ventromediale Thalamus und der Nucleus Bellonci schwache Eingänge aus dem Septum laterale. Die Projektionen waren zum größten Teil auf die ipsilaterale Seite beschränkt. Nur wenige axonale Terminalien wurden im contralateralen anterioren und posterioren Thalamus und im caudalen Bereich des ventromedialen Thalamus gefunden.

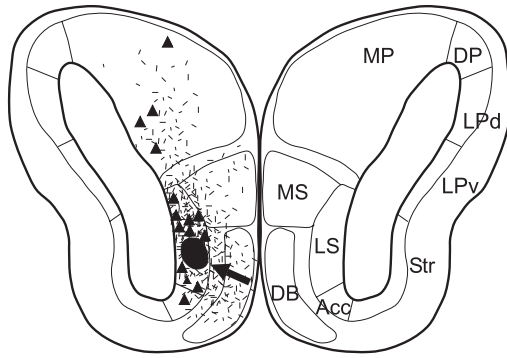
Efferente Projektionen des Septum laterale zum Hypothalamus waren bilateral stark. Ein dichtes Netz feiner varikoser Fasern lag vor allem im lateralen Neuropil und erstreckte sich über die rostrocaudale Ausdehnung der Kerngebiete. Im posterioren Tuberculum terminierten weniger Axone. Im Mesencephalon waren lediglich im rostralen Torus laminaris sehr wenige Axone angefärbt. In weiter caudal gelegene Kerngebieten wurden keine Terminalien beobachtet.

Angaben zu weiteren Verbindungen des Septum laterale mit kleineren Kerngebieten sind Tab. VII (Anhang) zu entnehmen. Abb. 35 zeigt in schematischen Transversalschnitten die Verteilung der markierten Somata und Axone.

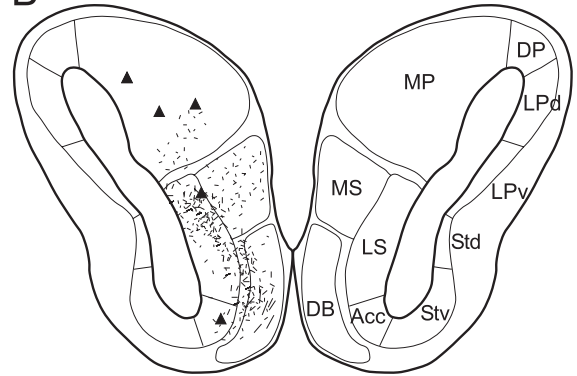
Vergleich mit den Kontrollen:

Die Tracingstudien im Septum laterale standen insgesamt in guter Übereinstimmung mit den Kontrollen. Applikationen im Pallium mediale zeigten, dass die beiden Kerngebiete auf der ipsilateralen Seite reziprok miteinander verbunden waren und dass Projektionen des Pallium mediale zum contralateralen Septum laterale nur sehr schwach waren. Applikationen im Septum mediale bestätigten schwache reziproke Verbindungen, die ausschließlich auf die ipsilaterale Seite beschränkt waren. Bei Kontrollen in der Area praeoptica anterior waren bilateral sehr viele Neuronen des Septum laterale markiert, wodurch eine starke efferente Projektion des Septum mediale in die präoptische Region bestätigt wurde; die Projektionsneuronen im Septum laterale waren über die gesamte rostrocaudale Ausdehnung des Kerngebietes verteilt. Die Kontrollen im dorsalen Thalamus standen insgesamt in guter Übereinstimmung mit den hier beschriebenen Befunden. Lediglich bei Applikationen im centralen Thalamus wurden zusätzlich Hinweise auf eine Projektion zum Septum laterale gefunden. Kontrollen im ventromedialen Thalamus zeigten, dass die Projektionsneuronen des Septum laterale hauptsächlich im rostralen und intermediären Bereich des Kerngebietes lagen. Bei Kontrollen im anterioren Thalamus waren sie hingegen über die gesamte rostrocaudale Ausdehnung des Septum laterale verteilt. Bei einer Applikation im posterioren Tuberculum waren wenige Zellen des Septum laterale retrograd markiert, die eine schwache Verbindung bestätigten. Der Vergleich der Tracingstudien im Septum laterale mit den Kontrollen im Telencephalon und im Thalamus ist in den Übersichtsschemata in Abb. 37 bis Abb. 39 am Ende von Kap. 3.2. zusammengefasst.

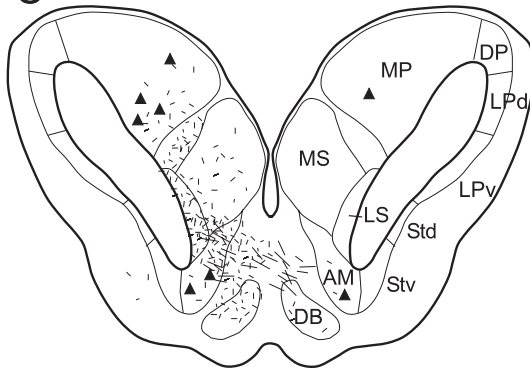
A



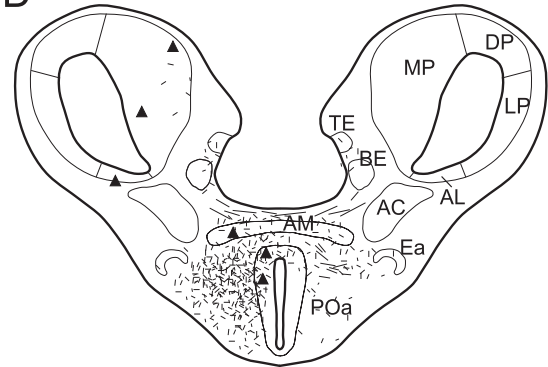
B



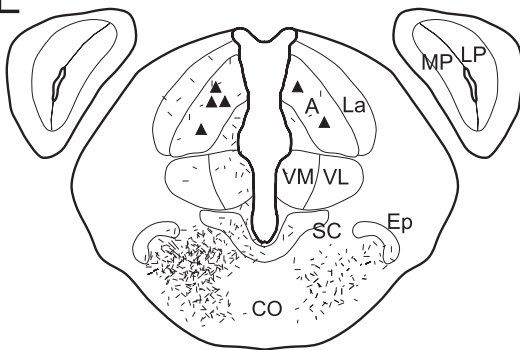
C



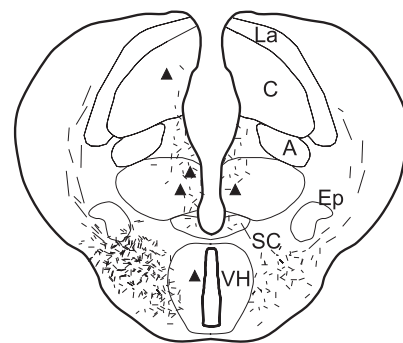
D



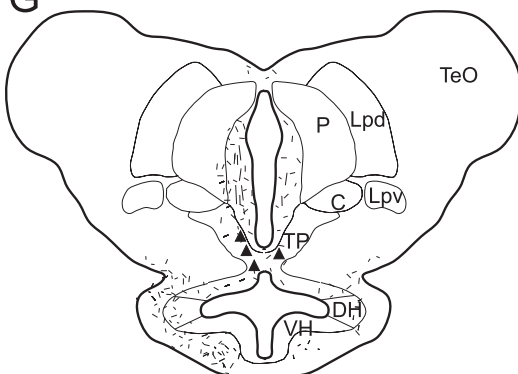
E



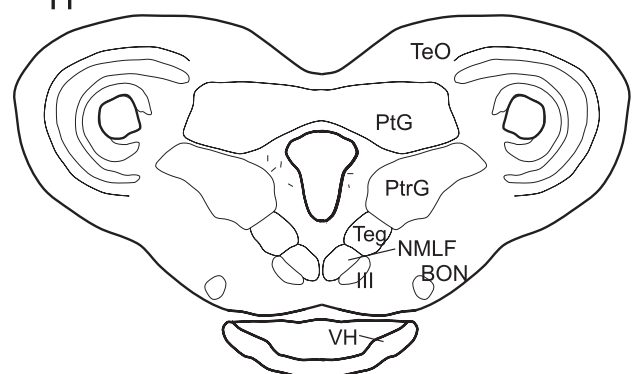
F



G



H



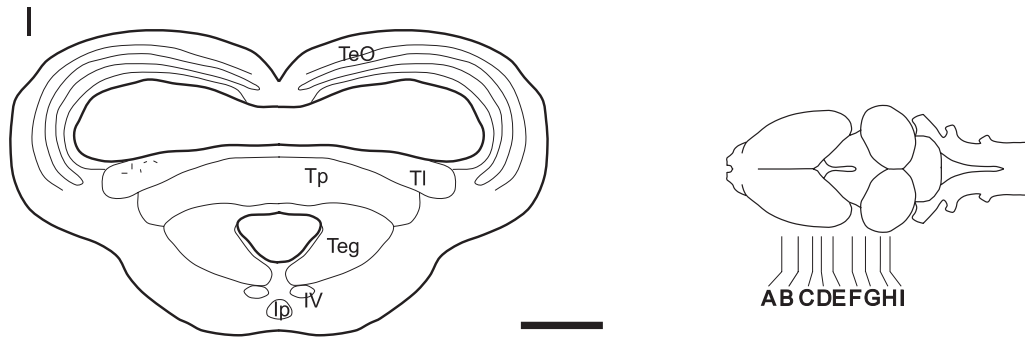


Abb. 35: Tracingstudie im Septum laterale. Dargestellt sind schematische Transversalschnitte durch das Gehirn, welche die Verteilung von markierten Somata (Dreiecke) und axonalen Fasern (feine Linien) nach einer iontophoretischen Applikation von Neurobiotin im Septum laterale (schwarzer Bereich in Schnittebene A, siehe Pfeil) zeigen. Die Schnittebenen sind in der Ganzhirn-Aufsicht gekennzeichnet. Maßstab = 500 µm, für Abkürzungen siehe Liste.

3.2.5.2. Verbindungen des Septum mediale

Das Septum mediale war mit einer Vielzahl von Kerngebieten im Vorderhirn und im Hirnstamm verbunden. Tab. VIII (Anhang) gibt einen Überblick über die Projektionen.

Afferenzen:

Telencephale Afferenzen erhielt das Septum mediale hauptsächlich von der ipsilateralen Seite, Afferenzen aus Kerngebieten caudal der Commissura anterior waren hingegen überwiegend bilateral.

In der Mitralzellschicht und der Granulärzellschicht des Bulbus olfactorius waren ipsilateral einige Somata markiert. Im contralateralen Septum mediale waren insbesondere im caudalen Bereich sehr wenige Neuronen retrograd markiert. Afferenzen aus dem Septum laterale waren auf die ipsilaterale Seite beschränkt und nur schwach. Im ipsilateralen Nucleus des Diagonalen Bandes von Broca waren im rostralen Bereich deutlich mehr Somata markiert als caudal. Die meisten retrograd markierten Somata wurden im ipsilateralen Pallium mediale gefunden, sie waren über die gesamte rostrocaudale Ausdehnung des Kerngebietes verteilt. Auf der contralateralen Seite waren nur wenige Neuronen im caudalen Bereich des Pallium mediale angefärbt. Im ipsilateralen Pallium dorsale und laterale waren wenige Somata angefärbt. Im Bereich des Nucleus accumbens wurden ipsilateral mehrere retrograd markierte Neuronen gefunden.

In der rostralen medialen Amygdala war ipsilateral eine Gruppe von Zellen markiert, die im ventrolateralen Bereich des Kerngebietes lag und sich an der ventralen Spitze

des Ventrikels nach rostral fortsetzte. Contralateral waren im gleichen Bereich ebenfalls einzelne Neuronen angefärbt. Eingänge aus der lateralen und centralen Amygdala waren nur schwach. Im Nucleus entopeduncularis anterior waren bei einigen Tracingstudien ipsilateral sehr wenige Neuronen markiert. In der Area praeoptica anterior waren mehr Neuronen im caudalen als im rostralen Bereich gefärbt. Im Nucleus suprachiasmaticus waren besonders viele Neuronen im ventralen Bereich markiert, teilweise lagen diese Zellen in einem Verbund lose gepackter Zellen lateral vom Kerngebiet. In der Habenula waren ipsilateral einzelne Neuronen mit dem Farbstoff gefüllt.

Afferenzen aus dem Thalamus waren bilateral. Die meisten retrograd markierten Neuronen lagen im anterioren Thalamus. Im äußersten caudalen Bereich des ventromedialen und centralen Thalamus wurden ebenfalls einige retrograd markierte Neuronen gefunden. Im dorsalen, ventralen und lateralen Hypothalamus waren bilateral wenige Neuronen markiert. Bei einigen Tracingstudien waren im Nucleus fasciculi longitudinalis medialis wenige Neuronen im medialen Bereich markiert.

Bilaterale Eingänge aus dem praetectalen Grau und aus dem Tegmentum waren schwach. Im Nucleus visceralis secundarius und im Griseum centrale waren sehr wenige Neuronen markiert. Vergleichsweise starke Afferenzen erhielt das Septum mediale hingegen aus dem Nucleus raphes der Formatio reticularis.

Efferenzen:

Die efferenten Projektionen des Septum mediale waren auf das Vorderhirn beschränkt.

Innerhalb des Bulbus olfactorius zogen die Axone insbesondere in die Granulärzellschicht. Auch in der Mitralzellschicht waren einzelne Axone markiert. Sehr viele Axone terminierten im ipsilateralen Nucleus des Diagonalen Bandes von Broca und im Pallium mediale. Auch im Nucleus accumbens waren ipsilateral mehrere Fasern markiert. Efferente Projektionen zum ipsilateralen Septum laterale waren vergleichsweise schwach, die Dichte axonaler Terminalien war im caudalen Bereich des Kerngebietes etwas höher. Über das Pallium mediale und dorsale zogen ipsilateral einzelne Fasern bis in das Pallium laterale. Im ipsilateralen Striatum wurden caudal vereinzelt Axone mit Varikositäten gefunden. Die efferenten Projektionen zur contralateralen Seite des Telencephalon waren sehr schwach und beschränkten sich auf das Septum mediale, das Pallium mediale und den Nucleus des Diagonalen Bandes von Broca.

Zum Bed Nucleus der pallialen Kommissur und zur Eminentia thalami zogen ipsilateral sehr viele, contralateral hingegen deutlich weniger Axone. Im Bereich des Nucleus entopeduncularis anterior waren bilateral wenige axonale Fasern zu sehen. Im Neuropil der medialen Amygdala lag bilateral ein sehr dichtes Netz feiner varikoser Fasern, teilweise zogen die Axone bis zu den Somata. In der centralen und lateralen Amygdala terminierten weniger Axone. Auf Höhe der medialen Amygdala zogen viele Fasern über die Commissura pallii und die Commissura anterior zur contralateralen Seite.

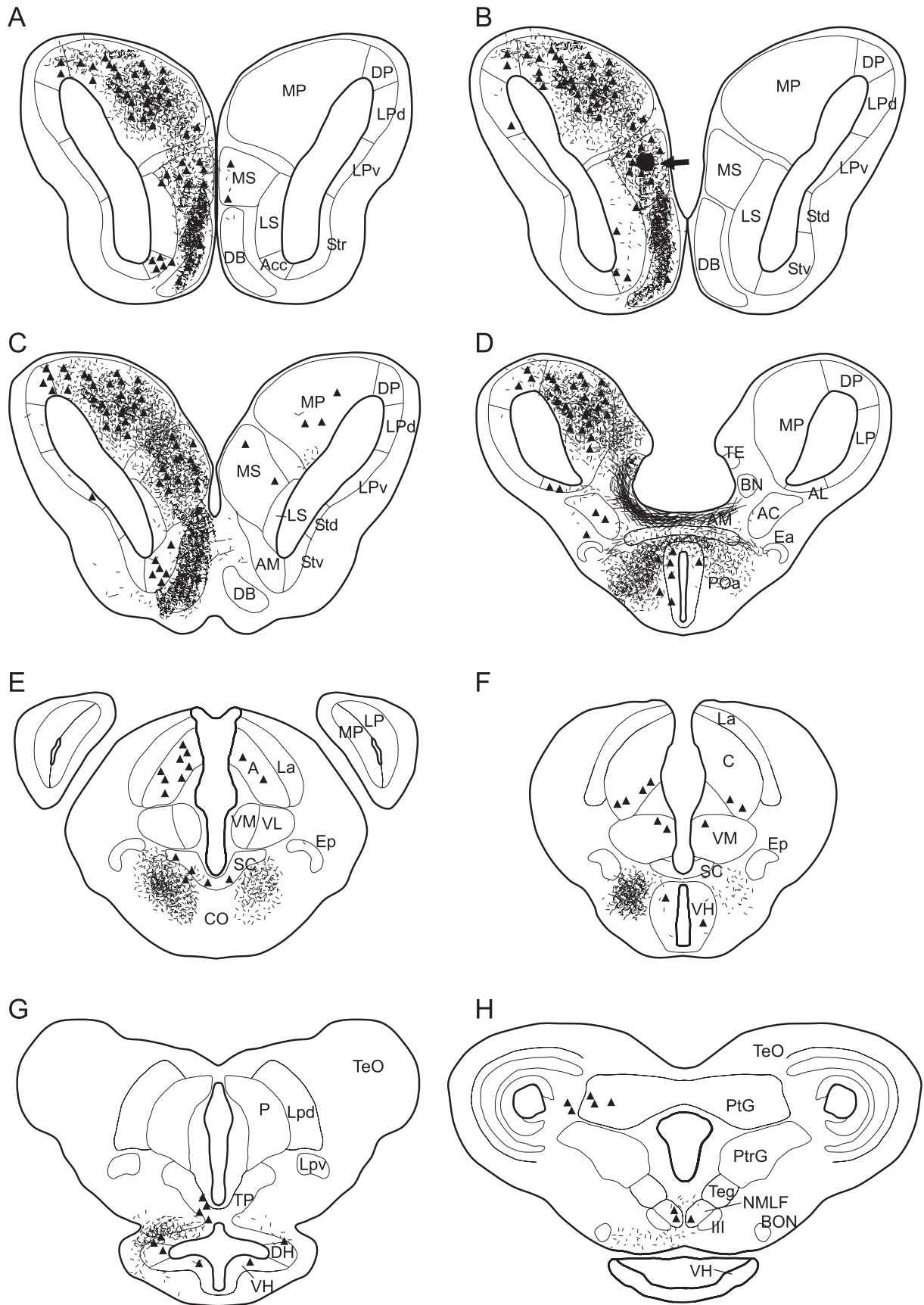
Projektionen zum Diencephalon verliefen bilateral über das mediale Vorderhirnbündel. Im Bereich der ipsilateralen präoptischen Region lag ein dichtes Netz varikoser Fasern im lateralen Neuropil, etliche Fasern zogen auch zu den Somata. Contralateral war die Faserdichte in den Kerngebieten der präoptischen Region etwas geringer. In der Habenula terminierten ipsilateral axonale Fasern. In den Kernen des Hypothalamus wurden bilateral Terminalien gefunden, besonders im Bereich des dorsalen Hypothalamus. Auch im posterioren Tuberculum waren bilateral axonale Terminalien zu sehen, die sich besonders auf den ventralen Bereich konzentrierten, die Stärke der Projektionen variierte bei den Tracingstudien. In weiter caudal gelegenen Kerngebieten wurden keine Terminalien gefunden.

Abb. 36 gibt anhand repräsentativer Transversalschnitte einen Überblick über die markierten Somata und Axone.

Vergleich mit den Kontrollen:

Tracingstudien in anderen Kerngebieten standen insgesamt in guter Übereinstimmung zu den beschriebenen Befunden, es gab jedoch auch einige Differenzen. So deuteten Tracerapplikationen im anterioren Thalamus nur auf eine schwache Projektion zum ipsilateralen Septum mediale hin. Bei Applikationen im centralen und ventromedialen Thalamus wurden hingegen schwache bilaterale Projektionen zum Septum mediale belegt. Außerdem zeigten die Tracingstudien im Thalamus, dass das Septum mediale keine Efferenzen zu thalamischen Kernen aufweist. Bei Applikationen im Striatum wurden keine schwachen Eingänge aus dem Septum mediale bestätigt. Allerdings wurden auch keine Applikationen im äußersten caudalen Striatum durchgeführt, wo die Terminalien nach Applikationen im Septum mediale gefunden wurden. Tracerapplikationen im Pallium mediale belegten, dass das Septum mediale starke ipsilaterale Afferenzen aus diesem Kerngebiet erhielt und dass seine eigenen Projektionen in das Pallium mediale etwas schwächer waren. Außerdem wurden axonale Terminalien im contralateralen Septum mediale

gefunden, die contralaterale Projektionen des Pallium mediale zum Septum mediale belegen. Hinweise auf Projektionen des Septum mediale zum contralateralen Pallium mediale wurden hingegen nicht gefunden. Bei Kontrollen in der Area praeoptica anterior wurden bilateral retrograd markierte Neuronen im Septum mediale gefunden, wobei die Anzahl ipsilateral deutlich höher war. Anders als im Septum laterale waren die Projektionsneuronen nicht gleichmäßig über die rostrocaudale Ausdehnung des Kerngebietes verteilt. So war ihre Anzahl im caudalen Telencephalon mit der im Septum laterale vergleichbar, nahm jedoch nach rostral ab. Der Vergleich der Tracingstudien im Septum mediale mit den Kontrollen im Telencephalon und im Thalamus ist in den Übersichtsschemata in Abb. 37 bis Abb. 39 am Ende von Kap. 3.2. zusammengefasst.



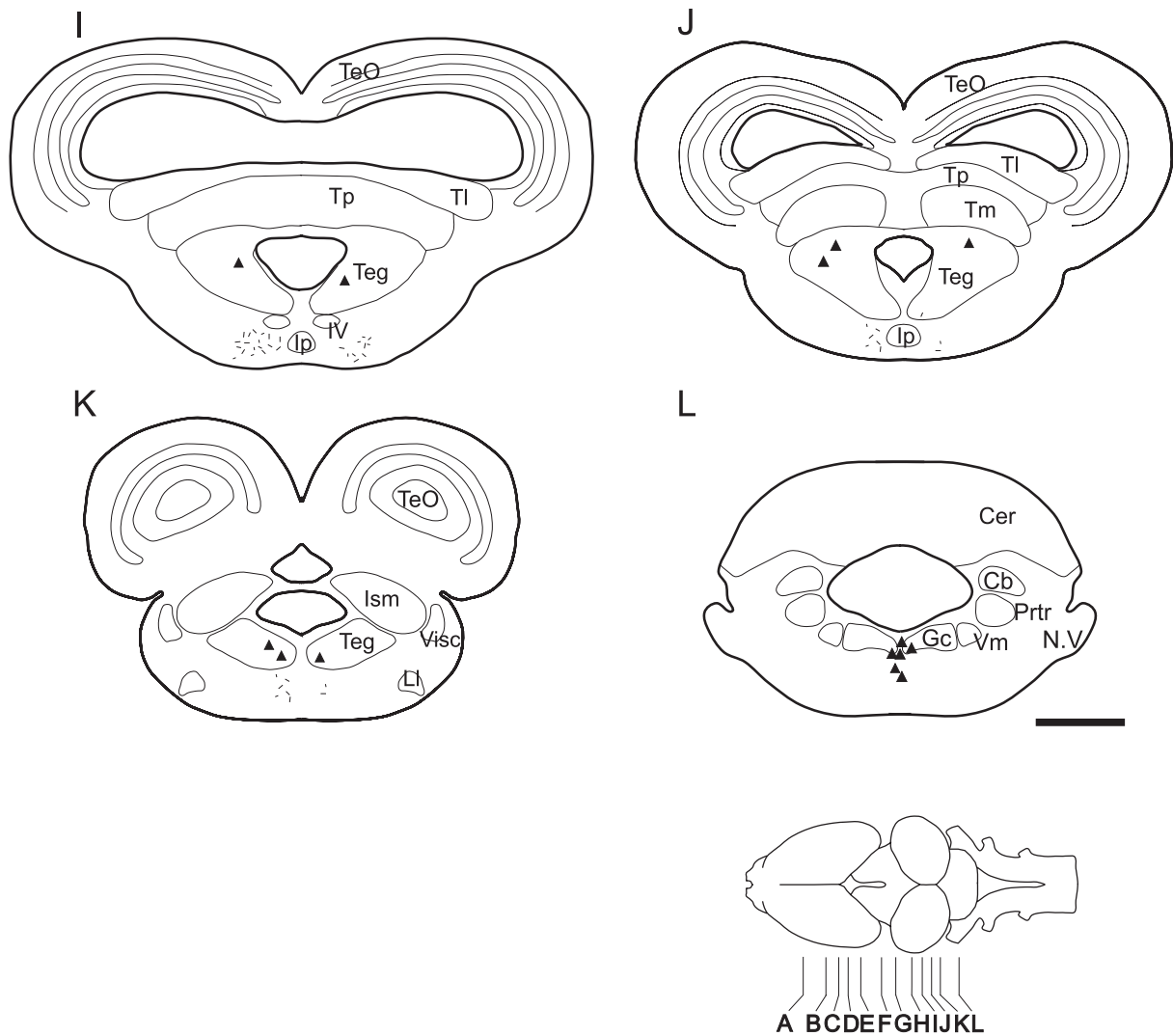


Abb. 36: Tracingstudie im Septum mediale. Dargestellt sind schematische Transversalschnitte durch das Gehirn, die die Verteilung von markierten Somata (Dreiecke) und axonalen Fasern (feine Linien) nach einer iontophoretischen Applikation von Neurobiotin im Septum mediale (schwarzer Bereich in Schnittebene B, siehe Pfeil) zeigen. Die Schnittebenen sind in der Ganzhirn-Aufsicht dargestellt. Maßstab = 500 μ m, für Abkürzungen siehe Liste.

3.2.5.3. Verbindungen des Nucleus des Diagonalen Bandes von Broca

Tab. IX (Anhang) gibt einen Überblick über die Verschaltungen des Nucleus des Diagonalen Bandes von Broca. Diese Angaben können jedoch nur als Hinweise verstanden werden, da sie auf einseitigen Tracingstudien ohne Kontrollen beruhen (vgl. 3.2.5.).

Efferenzen:

Retrograd markierte Somata im Nucleus des Diagonalen Bandes von Broca wiesen auf efferente Projektionen dieses Kerngebietes hin. Sie wurden bei Applikationen im Pallium mediale, im Septum mediale und in der Area praeoptica anterior beobachtet.

Afferenzen:

Axonale Terminalien im Nucleus des Diagonalen Bandes von Broca wurden bei zahlreichen Tracingstudien in anderen Kerngebieten gefunden. Sie deuten auf Afferenzen aus diesen Kerngebieten hin und wurden insbesondere bei Tracingstudien im Pallium mediale, Septum mediale, Septum laterale und in der Area praeoptica anterior beobachtet. Weniger dicht war das Netz axonaler Terminalien bei Tracingstudien in den thalamischen Kernen, die meisten Terminalien waren nach Tracingstudien im centralen Thalamus markiert. Bei Tracingstudien im Striatum waren keine Terminalien im Bereich des Nucleus des Diagonalen Bandes von Broca zu finden.

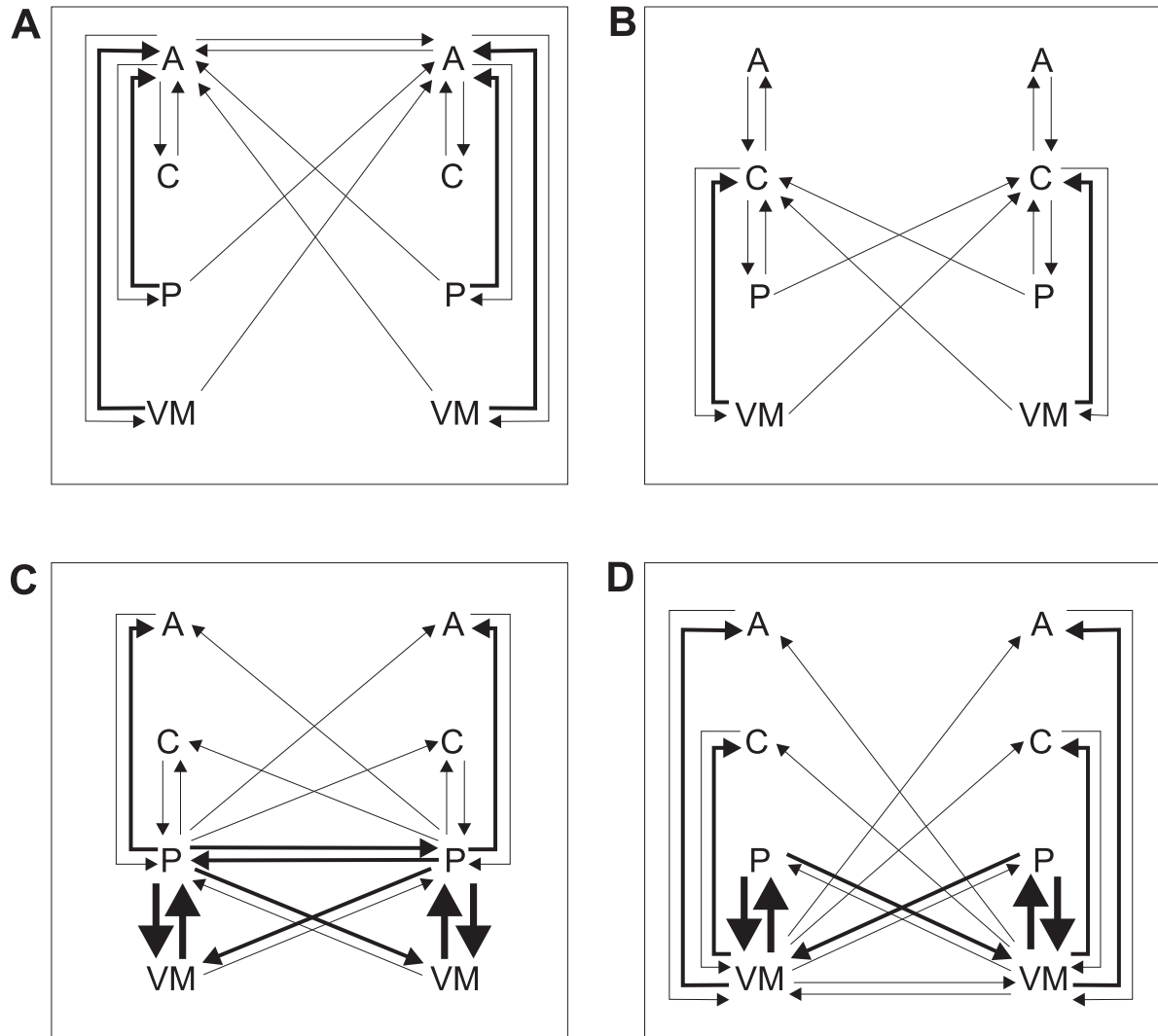


Abb. 37: Afferente und efferente Verbindungen des anterioren (A), centralen (B), posterioren (C) und ventromedialen (D) Thalamus. Dargestellt sind die Verbindungen der thalamischen Kerne untereinander jeweils auf der ipsilateralen und contralateralen Seite. Die Dicke der Pfeile repräsentiert die Stärke der Verbindung. Für Abkürzungen siehe Liste.

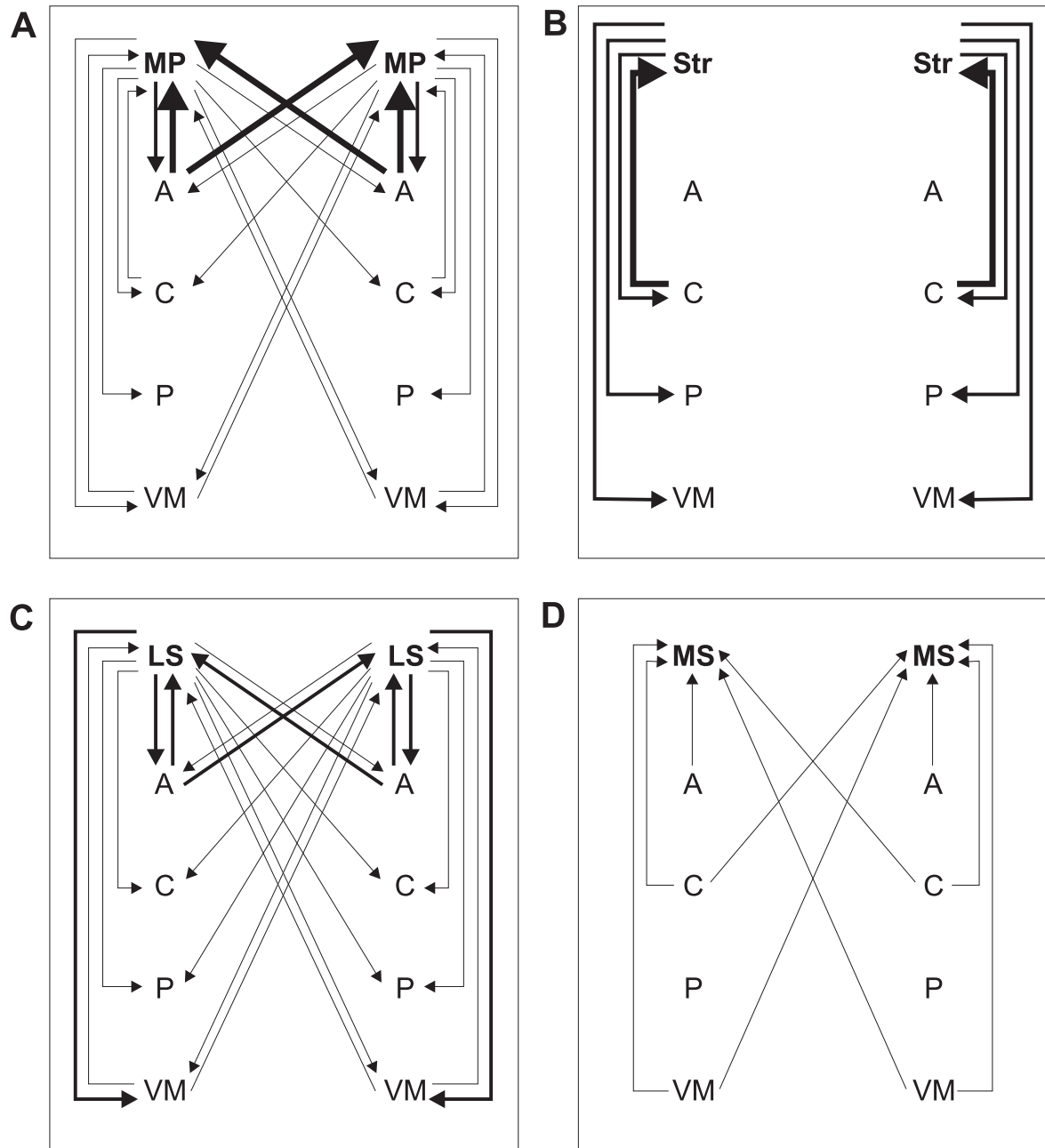


Abb. 38: Afferente und efferente Verbindungen des caudalen und intermediären Striatum (A), des Pallium mediale (B), des Septum laterale (C) und des Septum mediale (D). Dargestellt ist die Verbindung mit den untersuchten Thalamuskernen jeweils auf der ipsilateralen und contralateralen Seite. Die Dicke der Pfeile repräsentiert die Stärke der Verbindung. Für Abkürzungen siehe Liste.

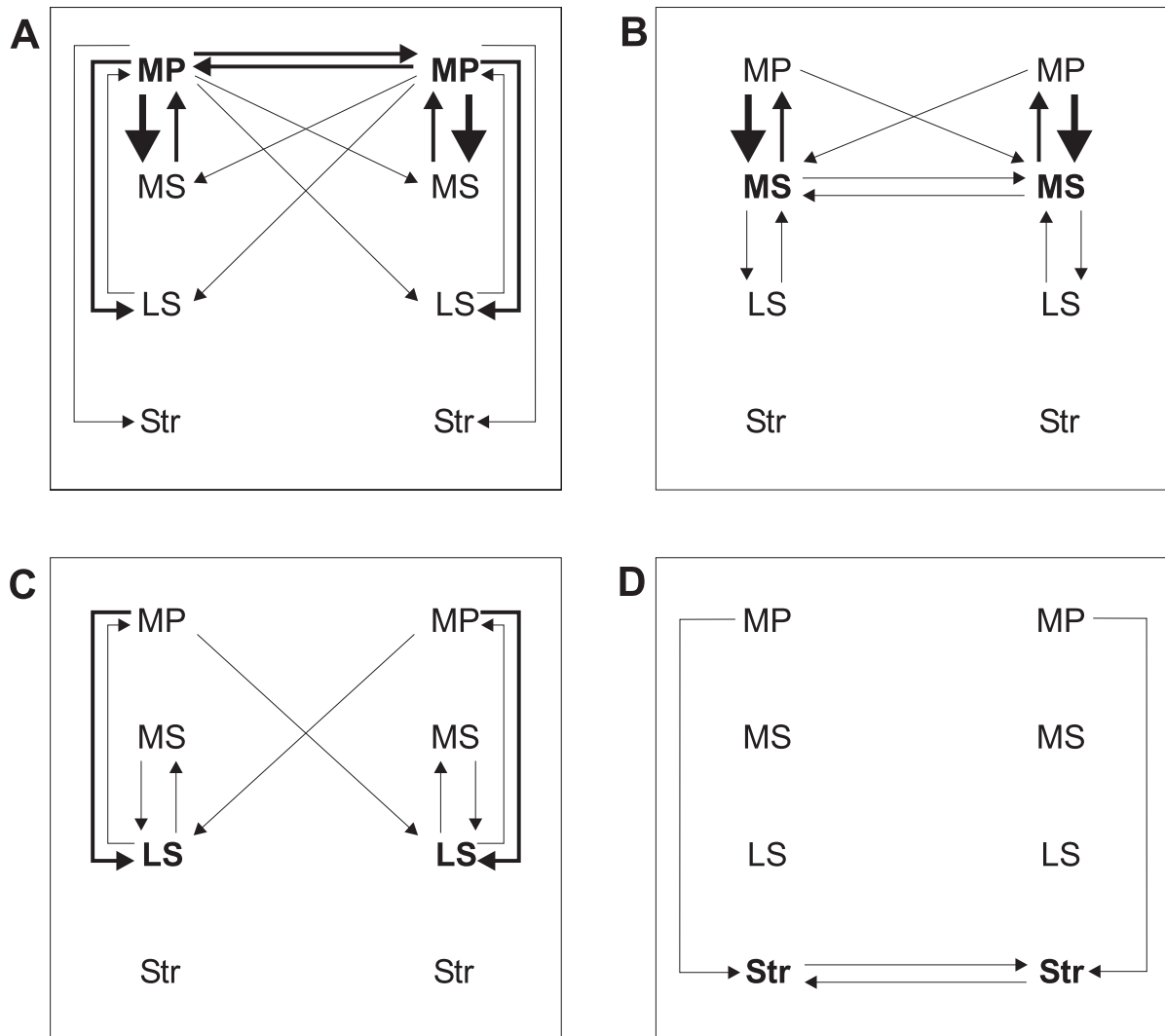


Abb. 39: Afferente und efferente Verbindungen des Pallium mediale (A), Septum mediale (B), Septum laterale (C) und Striatum (D). Dargestellt sind die Verbindungen der Kerne untereinander jeweils auf der ipsilateralen und contralateralen Seite. Die Dicke der Pfeile repräsentiert die Stärke der Verbindung. Für Abkürzungen siehe Liste.

3.3. Intrazellulärableitungen und Einzelzellanfärbungen

3.3.1. Methodische Befunde

Bei *Hyla versicolor* erwies sich eine erfolgreiche Elektrodenpenetration von einzelnen striatalen Neuronen als schwierig. Falls eine Zelle penetriert wurde, verringerte sich das Membranpotential, auch bei einem anfänglichen Potentialssprung von über 40 mV, in den meisten Fällen innerhalb der ersten Sekunden sehr stark und stabilisierte sich auch nach mehreren Minuten nicht. Eine leichte Hyperpolarisation der Zellen durch eine negative Stromeinprägung konnte nicht zu einer Stabilisierung des Membranpotentials beitragen. Bei diesen Neuronen konnte nicht von einer typischen physiologischen Antwort ausgegangen werden, so dass von einer Aufzeichnung abgesehen wurde.

Wegen der experimentellen Schwierigkeiten bei Intrazellulärableitungen im Striatum von *Hyla versicolor* wurde dazu übergegangen, Intrazellulärableitungen bei *Bombina orientalis* durchzuführen. Bei dieser Art konnten bereits erfolgreich Intrazellulärableitungen in verschiedenen Hirnregionen durchgeführt werden (Endepols & Walkowiak 1999, 2001; Klein 2000). Außerdem zeigte sich, dass die Somata im Striatum von *Bombina orientalis* im Mittel einen größeren Durchmesser aufwiesen als die striatalen Neuronen von *Hyla versicolor* (Tab. 4), wodurch eine erfolgreiche Elektrodenpenetration bei Erhalt eines stabilen Membranpotentials im allgemeinen vereinfacht wird. Die Durchmesser der Somata wurden mit Hilfe der vorliegenden Tracingstudien bestimmt, dabei wurde bei jeweils drei Individuen pro Art der maximale Durchmesser von jeweils zehn striatalen Neuronen ermittelt.

Tab. 4: Durchmesser der Somata im Striatum von *Hyla versicolor* und *Bombina orientalis*.

	<i>Bombina orientalis</i>	<i>Hyla versicolor</i>
Durchmesser der Somata im Striatum [µm]	14,4 ± 1,9 (n=30)	10,5 ± 1,4 (n=30)

Die Elektrodenpenetration striataler Neuronen verlief bei *Bombina orientalis* tatsächlich erfolgreicher als bei *Hyla versicolor*. Das Membranpotential stabilisierte sich in Anschluss an die Penetration häufiger (vgl. 3.3.2.1.). Allerdings verschlechterte es sich in vielen Fällen im Verlauf länger andauernder Registrierungen. Es erwies sich daher als unpraktikabel, Interstimulusintervalle von

90 s und mehr zu verwenden, bei denen bei den Extrazellulärableitungen die maximale Amplitude der EPs gemessen wurde (vgl. 3.1.2.2.). Aufgrund dieser Problematik wurde bei den Intrazellulärableitungen mit einem Interstimulusintervall von 20 s oder 30 s stimuliert, auch wenn davon ausgegangen werden musste, dass in diesem Fall einzelne, stark habituierende Neuronen nicht auf diese Reize antworteten. Eine Beeinflussung der Latenz und Dauer der Antworten war hingegen nicht zu erwarten, da diese Parameter bei den Extrazellulärableitungen keine Abhängigkeit vom Interstimulusintervall zeigten.

Bei denjenigen Neuronen, bei denen eine intrazelluläre Füllung mit Neurobiotin vorgenommen wurde, waren Somata, Dendriten und Axone gleichmäßig tiefschwarz gefärbt mit einem guten Signal-Hintergrund-Kontrast. Feine Strukturen wie dendritische Spines und axonale Varikositäten waren lichtmikroskopisch sehr gut zu erkennen. Die axonalen Projektionen der striatalen Neuronen waren auch über Distanzen von mehr als 8 mm angefärbt. Allerdings waren diese Strukturen so fein, dass sie auch bei einer 400fachen Vergrößerung kaum zu sehen waren. Eine Rekonstruktion war in der Regel nur anhand der Verfolgung der varikosen Verdickungen möglich. Es kann daher nicht ausgeschlossen werden, dass axonale Projektionen ohne Varikositäten nicht berücksichtigt wurden. Da sich varikose Verdickungen jedoch besonders im Bereich der Terminationsgebiete eines Axons befinden, ist davon auszugehen, dass diese Gebiete weitgehend erfasst wurden. Wie bei den Tracingstudien erwies sich eine Transportzeit von 24 - 48 h als optimal, um auch die vom Soma weit entfernten axonalen Strukturen zu markieren. Es stellte sich heraus, dass die axonalen Projektionen der striatalen Neuronen sehr weitläufig waren und zum Teil bilateral verliefen. Daher erwies es sich für eine genaue Rekonstruktion als vorteilhaft, pro Gehirn nur ein Neuron zu füllen. Bei den Einzelzellanfärbungen waren zum Teil Gruppen von bis zu vier Neuronen in unmittelbarer Nachbarschaft markiert (Cluster). Ein Herausrutschen der Elektrode konnte für diese Mehrfachfüllungen nicht verantwortlich sein, da nach Beendigung der Iontophorese noch stabile intrazelluläre Ableitungen registriert werden konnten. Es wurde daher von einer Kopplung der markierten Neuronen über elektrische Synapsen (Gap junctions) ausgegangen und die Neuronencluster wurden bezüglich der axonalen Projektionen und der Dendriten als Einheit rekonstruiert. In einem Fall war ein Neuron markiert, bei dem der Farbstoff nicht iontophoretisch appliziert wurde (Bo/041001/N12). Anhand seiner Position konnte rekonstruiert werden, dass es sich um ein Neuron handelte, in dem eine 20-minütige Intrazellulärableitung durchgeführt wurde. Vermutlich diffundierte der Marker im Verlauf dieser Ableitung in die Zelle.

3.3.2. Physiologische Befunde

3.3.2.1. Durchgeführte Experimente

Es konnten Intrazellulärableitungen in 99 striatalen Neuronen von *Bombina orientalis* durchgeführt werden, bei denen das Membranpotential nach der Penetration zwischen -25 mV und -50 mV lag, der Mittelwert betrug $-35,1 \pm 7,2$ mV. Zum Teil verschlechterte sich das Membranpotential während der Registrierung. In diesen Fällen wurden die Antworten nur berücksichtigt, wenn sich die Antworttypen und die in der Auswertung berücksichtigten Parameter (Latenz und Dauer) nicht veränderten, sondern lediglich die Amplitude der Antworten variierte.

Bei den Ableitungen wurde bei 47 Neuronen die Reaktion auf eine Stimulation des N. VIII, bei 8 Neuronen die Reaktion auf eine Stimulation des N. II und bei 44 Neuronen die Reaktion auf eine alternierende Stimulation beider Nerven getestet. Die untersuchten Neuronen lagen im Bereich des caudalen Striatum (81 %) und des intermediären Striatum (19 %).

3.3.2.2. Antworteigenschaften der untersuchten Neuronen

Die untersuchten Neuronen waren zum Teil spontanaktiv (70 %), bei den übrigen Neuronen konnte eine erfolgreiche Zellpenetration lediglich anhand des Potentialsprungs festgestellt werden. 30 % der striatalen Neuronen von *Bombina orientalis* reagierten auf eine einfache Stimulation des N. VIII und 83 % auf eine einfache Stimulation des N. II.

Es wurden verschiedene Antworttypen als Reaktion auf eine Stimulation registriert, die jedoch innerhalb eines Neurons reproduzierbar waren. Die Antworten enthielten exzitatorische Komponenten in Form von exzitatorischen postsynaptischen Potentialen (EPSPs) oder Aktionspotentialen (APs) und inhibitorische Komponenten in Form von inhibitorischen postsynaptischen Potentialen (IPSPs). Diese Komponenten lagen innerhalb eines Antworttyps separat oder in unterschiedlichen Kombinationen vor.

Nach einer Stimulation des N. VIII reagierten die Neuronen mit einer Inhibition (I-Typ, 81 %), einer Inhibition gefolgt von einer Exzitation (IE-Typ, 11 %) oder einer Exzitation gefolgt von einer Inhibition (EI-Typ, 7 %). Als Reaktion auf eine Stimulation des N. II zeigten die Neuronen eine Inhibition (I-Typ, 74 %), eine Exzitation gefolgt von einer Inhibition (EI-Typ, 18 %), eine Inhibition gefolgt von einer Exzitation (IE-Typ, 4 %) oder eine Exzitation gefolgt von einer Inhibition und einer weiteren

Exzitation (EIE-Typ, 4 %). Die Dauer und der Verlauf der Antworten variierten zum Teil, so wiesen beispielsweise die inhibitorischen Antworten teilweise mehrere Peaks auf. Abb. 40 gibt einen Überblick über die unterschiedlichen Antworttypen.

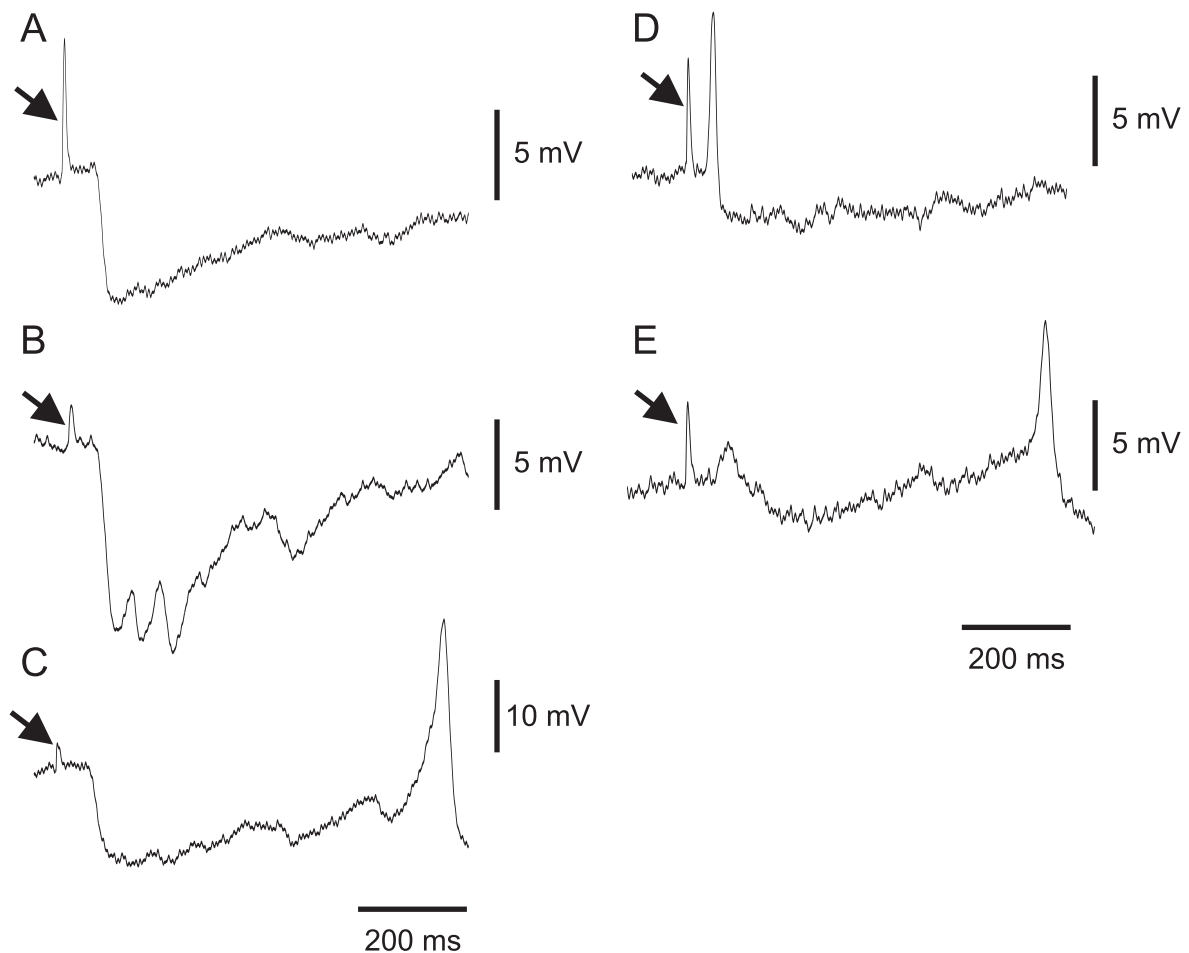


Abb. 40: Exemplarische Beispiele für intrazelluläre Antworten striataler Neuronen nach einer Stimulation des N. VIII (A, C) und N. II (B, D, E). Der Pfeil markiert das Stimulusartefakt. **A** Inhibition **B** mehrphasische Inhibition **C** Inhibition/Exzitation **D** Exzitation/Inhibition **E** Exzitation/Inhibition/Exzitation. Genauere Angaben zu den verschiedenen Antworttypen nach einer Stimulation des N. VIII und N. II sind dem Text zu entnehmen.

Bei 44 Neuronen wurde alternierend die Reaktion auf eine Stimulation des N. VIII und des N. II getestet. Dabei zeigte sich, dass die Neuronen entweder bei beiden Stimuli Antworten zeigten (34 %) oder nur auf eine Stimulation des N. II reagierten (66 %). Bei einer Reaktion auf beide Stimuli zeigten die Neuronen in 40 % der Fälle unterschiedliche Antworttypen. Die Latenzen der Antworten unterschieden sich bei allen Neuronen, die auf beide Stimuli reagierten, und waren in 33 % der Fälle bei

einer Stimulation des N. VIII und in 67 % der Fälle bei einer Stimulation des N. II kürzer.

3.3.2.3. Latenzen und Dauern der intrazellulären Antworten

Die Latenzen der Gesamtantworten lagen bei einer Stimulation des N. VIII zwischen 34 und 118 ms und bei einer Stimulation des N. II zwischen 34 und 67 ms. Bei der separaten Bestimmung der Latenzen der exzitatorischen und inhibitorischen Anteile der Antworten zeigte sich, dass die EPSPs nach einer Stimulation des N. II signifikant kürzere Latenzen aufwiesen als die IPSPs (Tab. 5). In Abb. 41 ist die Verteilung der Latenzen der exzitatorischen und inhibitorischen Anteile aller Antworten zusammengefasst.

Die Gesamtdauer der Antworten im Striatum variierte bei einer Stimulation des N. VIII zwischen 96 und 1133 ms und bei einer Stimulation des N. II zwischen 117 und 1331 ms. Die Dauer der EPSPs war sowohl nach einer Stimulation des N. VIII als auch des N. II signifikant kürzer als die Dauer der IPSPs (Tab. 6, Abb. 42)

Tab. 5: Latenz (Mittelwerte \pm Standardabweichung) der intrazellulären Antworten im Striatum von *Bombina orientalis* nach einer Stimulation des N. VIII bzw. des N. II. Angegeben sind die Latenzen der Gesamtantworten, der EPSPs und der IPSPs.

Intrazelluläre Antwort	Stimulation N. VIII	Stimulation N. II
Gesamtantwort	59,7 \pm 16,5 (n=27)	52,2 \pm 7,7 ms (n=50)
IPSPs	61,4 \pm 19,9 (n=27)	56,4 \pm 8,7 ms (n=50)
EPSPs	76,0 \pm 59,4 (n=2)	44,7 \pm 9,9 ms (n=11)
<i>p</i> (IPSPs > EPSPs)	n.s.	<i>p</i> < 0,001

Tab. 6: Dauer (Mittelwerte \pm Standardabweichung) der intrazellulären Antworten im Striatum von *Bombina orientalis* nach einer Stimulation des N. VIII bzw. des N. II. Angegeben sind die Dauern der Gesamtantworten, der frühen EPSPs und der IPSPs.

Intrazelluläre Antwort	Stimulation N. VIII	Stimulation N. II
Gesamtantwort	533,2 \pm 314,3 (n=26)	616,2 \pm 293,8 ms (n=38)
IPSPs	531,3 \pm 314,5 (n=26)	609,1 \pm 297,0 ms (n=38)
EPSPs	24,0 \pm 4,2 (n=2)	19,6 \pm 8,0 ms (n=11)
<i>p</i> (IPSPs > EPSPs)	<i>p</i> < 0,001	<i>p</i> < 0,001

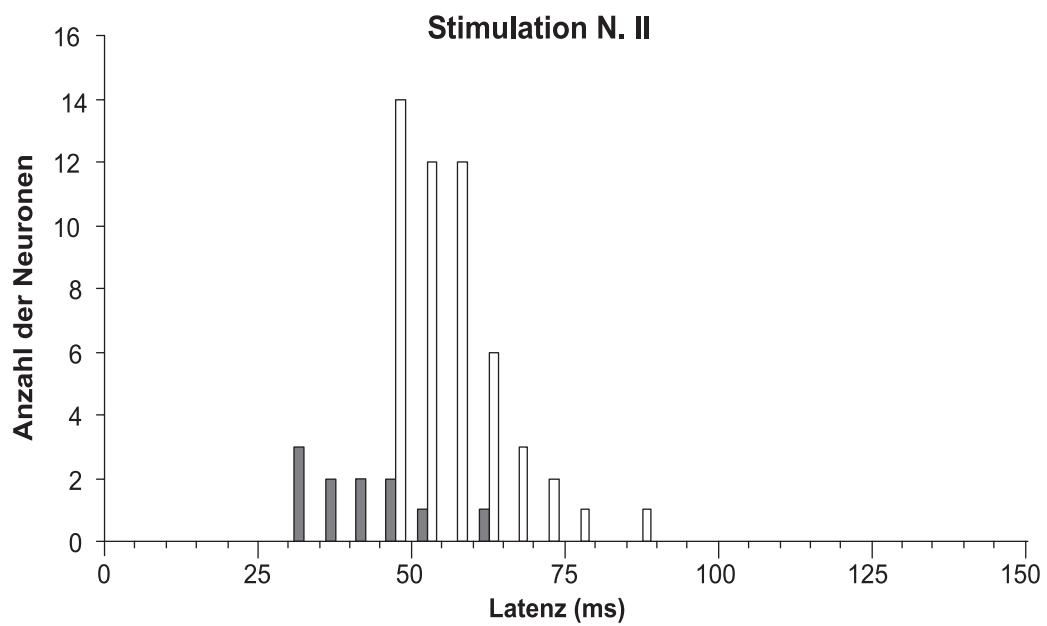
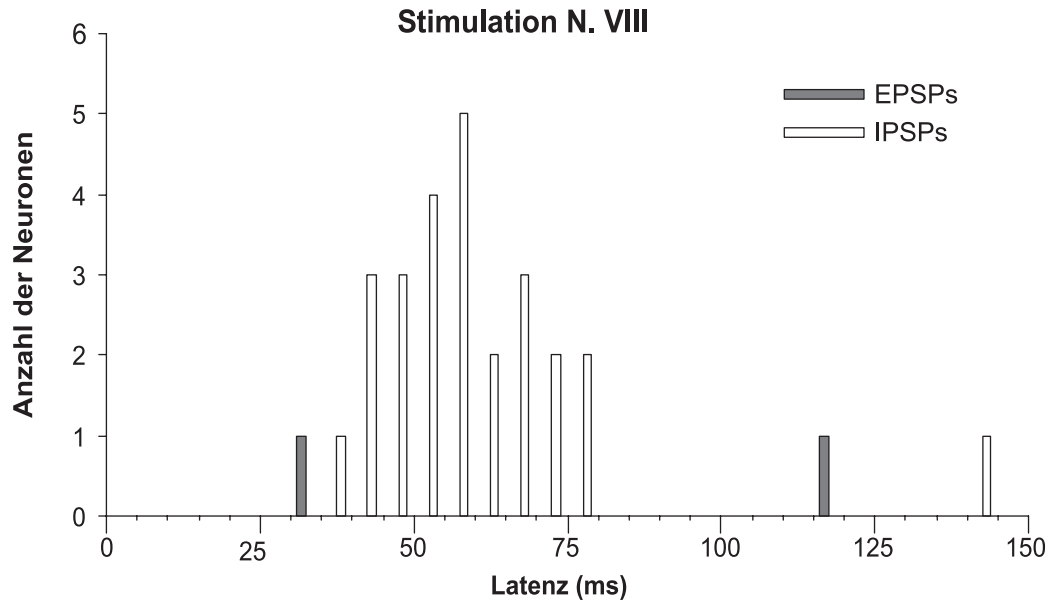


Abb. 41: Verteilung der Latenzen der exzitatorischen (EPSPs) und inhibitorischen (IPSPs) Anteile der Reizantworten striataler Neuronen von *Bombina orientalis* nach einer Stimulation des N. VIII bzw. N. II.

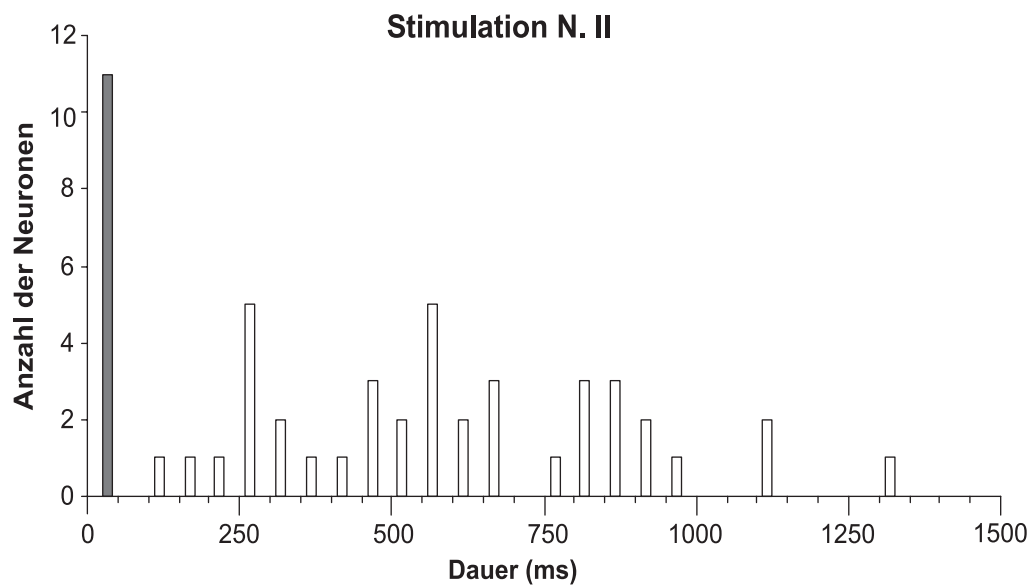
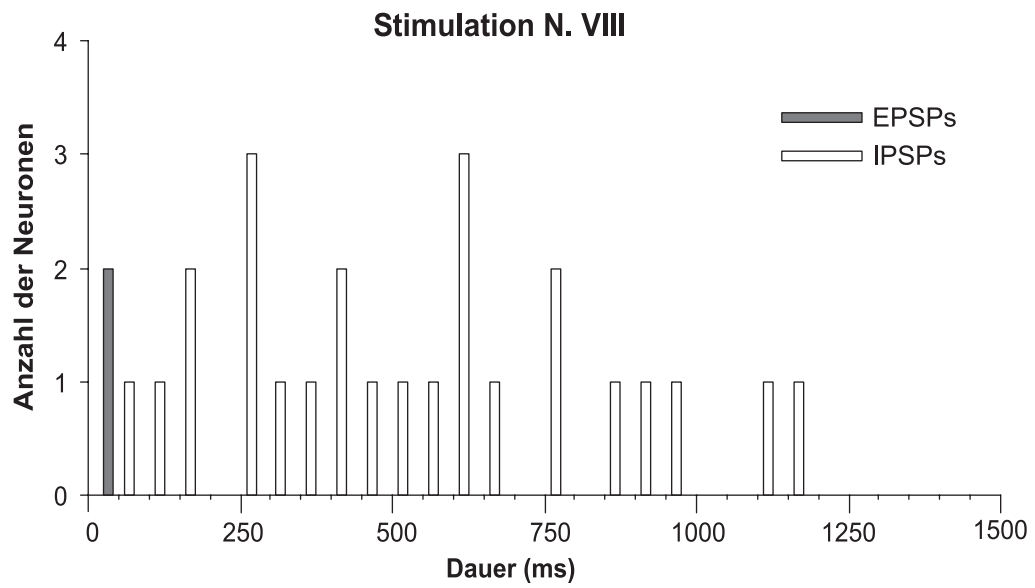


Abb. 42: Verteilung der Dauern der exzitatorischen (EPSPs) und inhibitorischen (IPSPs) Anteile der Reizantworten striataler Neuronen von *Bombina orientalis* nach einer Stimulation des N. VIII bzw. N. II.

3.3.3. Anatomische Befunde

3.3.3.1. Durchgeführte Experimente

Erfolgreiche Einzelzellanfärbungen im Anschluss an eine elektrophysiologische Charakterisierung der striatalen Neuronen wurden bei vier Präparaten von *Bombina orientalis* durchgeführt. Dabei wurden bei einem Gehirn (Bo/041001) drei Neuronen markiert. Bei den übrigen Gehirnen wurde nur jeweils eine Einzelzellfüllung vorgenommen, um eine erfolgreich Rekonstruktion der stark verzweigten neuronalen Strukturen zu ermöglichen. Lediglich bei zwei Neuronen gelang die Rekonstruktion der vollständigen axonalen Projektionen. Bei den anderen Präparaten konnten nur die Lage der Somata und Teile der Dendriten bzw. Axone rekonstruiert werden. Aufgrund der geringen Anzahl markierter Neuronen war eine Klassifizierung nicht möglich, die rekonstruierten Neuronen werden daher einzeln aufgeführt.

3.3.3.2. Anatomie einzelner Neuronen

Die Bezeichnungen der Einzelneuronen geben Auskunft über die Artbezeichnung (Bo = *Bombina orientalis*), das Datum und die fortlaufende Nummer der Neuronen, in denen an dem entsprechenden Tag Intrazellulärableitungen durchgeführt wurden.

Neuron Bo/290601/N4

Vor der Füllung Neurobiotin wurde das Neuron physiologisch charakterisiert. Es zeigte nach einer Stimulation des N. VIII eine Inhibition gefolgt von einer Exzitation (IPSP mit einer Latenz von 73 ms und Rebound-Spike mit einer Latenz von $624,3 \pm 54,2$ ms, $n=3$), die Reaktion auf eine Stimulation des N. II wurde nicht untersucht.

Das Soma ($10 \times 17 \mu\text{m}$) lag im intermediären Bereich des Striatum ventrale, es wies eine tiefschwarze Färbung auf. Die Markierung der Dendriten und des Axons war jedoch schlecht, so dass lediglich ein kurzes Teilstück des Axons rekonstruiert werden konnte (Abb. 43).

Neuron Bo/041001/N12

Das Neuron zeigte bei Intrazellulärableitungen nach einer Stimulation des N. VIII bzw. des N. II eine Inhibition (IPSP), mit einer Latenz von 48 bzw. 66 ms und einer Dauer von 510 bzw. 900 ms.

Das Soma des Neurons (8x10 µm) lag im intermediären Bereich des Striatum dorsale. Bei diesem Neuron wurde der Marker nicht iontophoretisch appliziert, sondern diffundierte vermutlich während der Intrazellulärableitung in die Zelle (vgl. 3.3.1.). Das Neuron konnte jedoch anhand seiner Lage identifiziert und der Intrazellulärableitung zugeordnet werden. Das Soma war nur schwach gefärbt, die zu dem Neuron gehörenden Dendriten konnten nicht rekonstruiert werden. Das Axon zog nach ventral und caudal, es verzweigte sich stark im lateralen Neuropil und innerhalb der Somata des Striatum ventrale. Ob es weitere axonale Projektionen nach caudal gab, konnte nicht mit Sicherheit gesagt werden; es waren zwar axonale Fasern außerhalb des Telencephalon zu sehen, sie konnten jedoch nicht eindeutig Neuron Bo/041001/N12 oder Neuron Bo/041001/N17 zugeordnet werden (Abb. 44).

Neuron Bo/041001/N16

Das Soma (8x13 µm) lag im intermediären Telencephalon an der Grenze zwischen dem Striatum dorsale und dem ventralen Pallium laterale, eine eindeutige Zuordnung war nicht möglich. Es handelte sich um ein bipolares Neuron. Ein glatter Dendritenbaum erstreckte sich in das laterale Neuropil des Striatum dorsale in einem Bereich 100 µm rostral und 250 µm caudal des Soma. Ein zweiter Fortsatz zog nach medial zum Ventrikel, er konnte nur über 100 µm verfolgt werden. Die stark varikosen Kollateralen des Axons zogen nach caudal ins Striatum dorsale und konnten über einen Bereich von 400 µm verfolgt werden (Abb. 45).

Neuron Bo/041001/N17

Das Neuron zeigte als Antwort auf eine Stimulation des N. VIII bzw. des N. II eine Inhibition (IPSP) mit einer Latenz von 52 bzw. 61 ms, die Gesamtdauer überschritt 750 ms und konnte aufgrund fehlender Videoaufzeichnungen nicht genau bestimmt werden.

Das Soma (10x18 µm) lag im intermediären Striatum ventrale. Die Dendriten, die stark mit Spines besetzt waren, erstreckten sich in das laterale Neuropil des Striatum ventrale, das Dendritenfeld umfasste einen Bereich von 250 µm caudal des Somas. Das Axon zog nach caudoventral und konnte nur über einen Bereich von 200 µm eindeutig verfolgt werden. Axonale Projektionen außerhalb des Telencephalon konnten Neuron Bo/041001/N17 oder Neuron Bo/041001/N12 nicht eindeutig zugeordnet werden (Abb. 46).

Neuron Bo/261001/N12

Das Neuron zeigte bei Intrazellulärableitungen nach einer Stimulation des N. VIII bzw. des N. II eine Inhibition (IPSP), mit einer Latenz von 44 bzw. 49 ms und einer Dauer von 355 bzw. 550 ms.

Bei der Füllung des Neurons wurde ein Cluster von vier Neuronen angefärbt. Die Somata (8x13, 8x18, 12x15 und 12x20 µm) dieser Neuronen lagen im caudalen Striatum ventrale in 70 - 90 µm Entfernung vom Ventrikel. Die Zellen besaßen jeweils 1-3 Primärdendriten. Die Dendriten waren größtenteils stark mit Spines besetzt und zogen von den Somata nach lateral. Sie befanden sich hauptsächlich im Neuropil des Striatum ventrale, nur ein Dendritenbaum erstreckte sich bis in das laterale Neuropil des Striatum dorsale. In rostraler Richtung der Somata dehnte sich das Dendritenfeld 150 µm weit aus, in caudaler Richtung 250 µm.

Die axonalen Projektionen verliefen nach caudal. Sie durchzogen das laterale Neuropil des Striatum ventrale und wiesen zahlreiche Varikositäten auf. Auf Höhe des Nucleus entopeduncularis anterior, in dessen Bereich die Fasern teilweise terminierten, mündeten etliche Projektionsfasern in das laterale Vorderhirnbündel, über das sie zum Diencephalon zogen. Auf Höhe des Nucleus entopeduncularis posterior, in dessen Bereich die Axone keine Varikositäten aufwiesen, zogen drei Fasern parallel nach dorsal in Richtung des dorsalen Thalamus. Sie terminierten jedoch nicht in den Kernen des Thalamus, sondern zogen weiter nach caudal; vereinzelt waren im caudalen Diencephalon varikose Verdickungen zu sehen. Auf Höhe des caudalen Bereiches des posterioren Thalamus bogen die Projektionsfasern nach ventral ab und passierten das Mesencephalon im ventrolateralen Neuropil des Torus semicircularis und des Tegmentum, wobei sie wieder mehr Varikositäten aufwiesen. Auch im lateralen Neuropil des Nucleus praetrigeminalis waren Kollateralen mit Varikositäten zu sehen. Nach caudal konnten sehr feine axonale Fasern bis in das Rückenmark verfolgt werden, wo sie im ventrolateralen Bereich verliefen (Abb. 47 und Abb. 48).

Neuron Bo/151101/N11

Das Neuron zeigte eine sehr geringe Spontanaktivität und reagierte sowohl bei einer Stimulation des N. VIII als auch bei einer Stimulation des N. II mit einer Inhibition gefolgt von einer Exzitation (IPSP und Rebound-Spike). Die Latenz der IPSPs betrug 60 bzw. 54 ms, die Gesamtdauer der Antwort 609 bzw. 770 ms.

Bei der Füllung des Neurons wurde ein Cluster von vier Neuronen angefärbt. Die Somata dieser Neuronen lagen im caudalen Bereich des Striatum dorsale. Drei Somata (10x18, 9x14 und 10x13 µm) grenzten unmittelbar aneinander und befanden sich in 75 µm Entfernung vom Ventrikel. Ein Soma (10x20 µm) lag in der gleichen Schnittebene, aber nur 30 µm vom Ventrikel entfernt.

Die Zellen besaßen jeweils 2-3 Primärdendriten. Die Dendriten, die größtenteils stark mit Spines besetzt waren, zogen von den Somata nach lateral in das Neuropil des Striatum und nach dorsal in den ventralen Bereich des Pallium laterale; in rostraler und caudaler Richtung dehnte sich das Dendritenfeld jeweils über 200 µm aus.

Die axonalen Projektionen der Neuronen verliefen nach caudal. Im Kerngebiet des Striatum fanden sich axonale Terminalien im lateralen Neuropil des Striatum dorsale und, in geringerem Ausmaß, des Striatum ventrale. Im caudalen Striatum waren außerdem zahlreiche axonale Terminalien im Bereich der Somata des Striatum dorsale zu beobachten. Auf Höhe der rostralen Area praeoptica anterior zogen mehrere axonale Fasern ipsilateral in das laterale Vorderhirnbündel. Es konnten außerdem axonale Fasern mit zahlreichen Varikositäten dorsal und ventral des lateralen Vorderhirnbündels beobachtet werden. Auf Höhe der medialen Amygdala zogen stark varikose Fasern über die Commissura anterior zur contralateralen Seite. Die Projektionsfasern passierten bilateral den Nucleus entopeduncularis anterior und verliefen über das laterale Vorderhirnbündel weiter ins Diencephalon. Auf Höhe des ipsilateralen Nucleus entopeduncularis posterior, in dessen Kerngebiet einzelne axonale Terminalien mit Varikositäten zu finden waren, bogen zwei dickere axonale Faser ohne Varikositäten nach dorsal ab. Im caudalen Diencephalon fanden sich zusätzlich zu diesen Hauptprojektionsfasern etliche sehr feine axonale Verzweigungen mit Varikositäten. Eine Kollaterale verlief nach dorsal zwischen dem posterodorsalen lateralen Thalamus und dem posteroventralen lateralen Thalamus. Mehrere Kollateralen zogen nach medial in Richtung des posterioren Tuberculum bzw., in stärkerem Ausmaß, zum dorsalen Hypothalamus und zum basalen optischen Nucleus. Caudal des posterioren Tuberculum zog eine Faser ventral vom Nucleus interpeduncularis über die Commissura tuberculi posterioris zur contralateralen Seite und terminierte im basalen optischen Nucleus. Zusätzlich zu den Fasern, die durch das laterale Vorderhirnbündel zogen, befand sich auf der ipsilateralen Seite eine Faser, die im rostralen Diencephalon zwischen dem Ventrikel und dem dorsalen Nucleus suprachiasmaticus verlief und schließlich nach dorsal abbog und in das Kerngebiet des ventromedialen Thalamus zog. Auf der contralateralen Seite konnten axonale Fasern, die ebenfalls durch das laterale Vorderhirnbündel zogen, bis ins

caudale Diencephalon verfolgt werden, wo eine Faser mit Varikositäten nach medial zum posterioren Tuberculum abbog. Vom Mesencephalon bis zum rostralen Rhombencephalon konnte keine durchgehende Rekonstruktion der Axone durchgeführt werden, da die Färbung auf dem entsprechenden Objektträger nur sehr schwach war. Dennoch konnten auf einigen Schnitten markierte Faserabschnitte lokalisiert werden, so waren im lateralen Neuropil des Nucleus praetrigeminalis sehr dünne axonale Fasern mit Varikositäten zu sehen. Nach caudal konnten sehr feine Axone mit vielen Varikositäten bis ins Rückenmark verfolgt werden (Abb. 49 und Abb. 50).

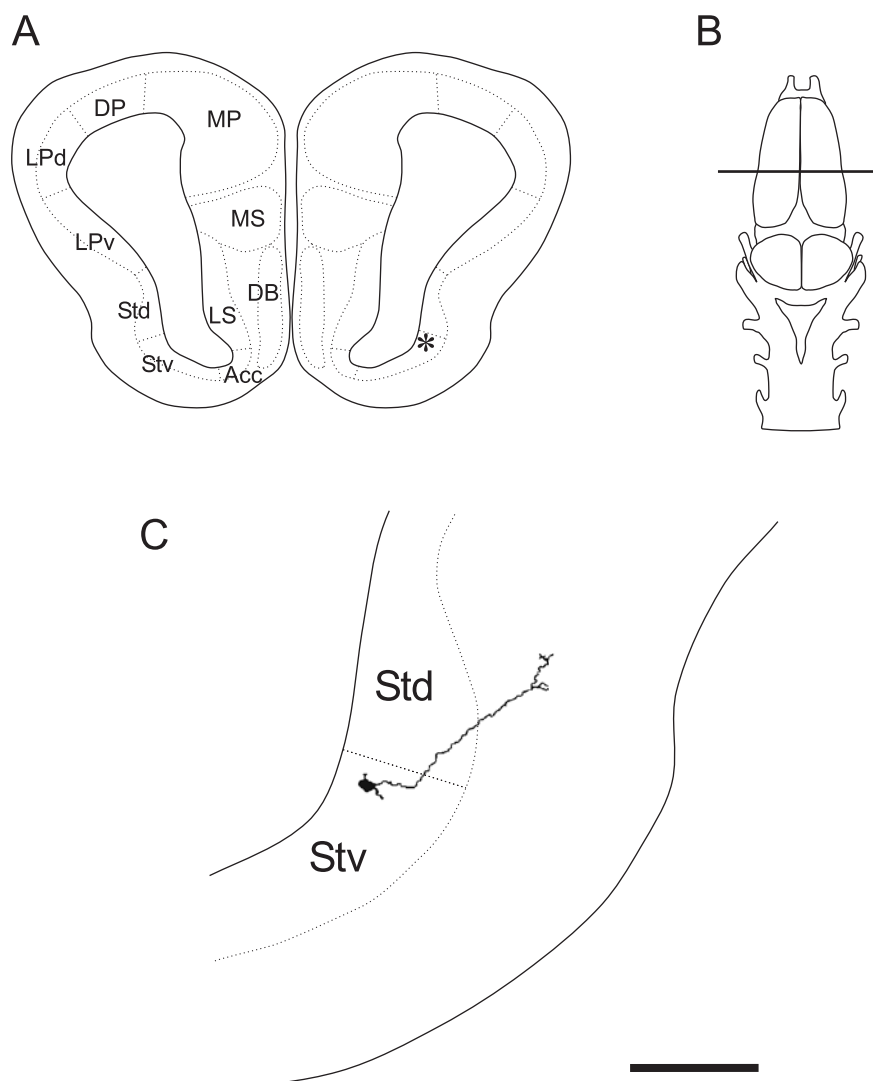


Abb. 43: Rekonstruktion von Neuron Bo/290601/N4. **A** Schematischer Querschnitt des Telencephalon, die Lage des Somas ist markiert (Stern). **B** Ganzhirnaufsicht mit Lage der Schnittebene. **C** Rekonstruiertes Soma und ein Teil des Axons. Maßstab = 100 μ m, für Abkürzungen siehe Liste.

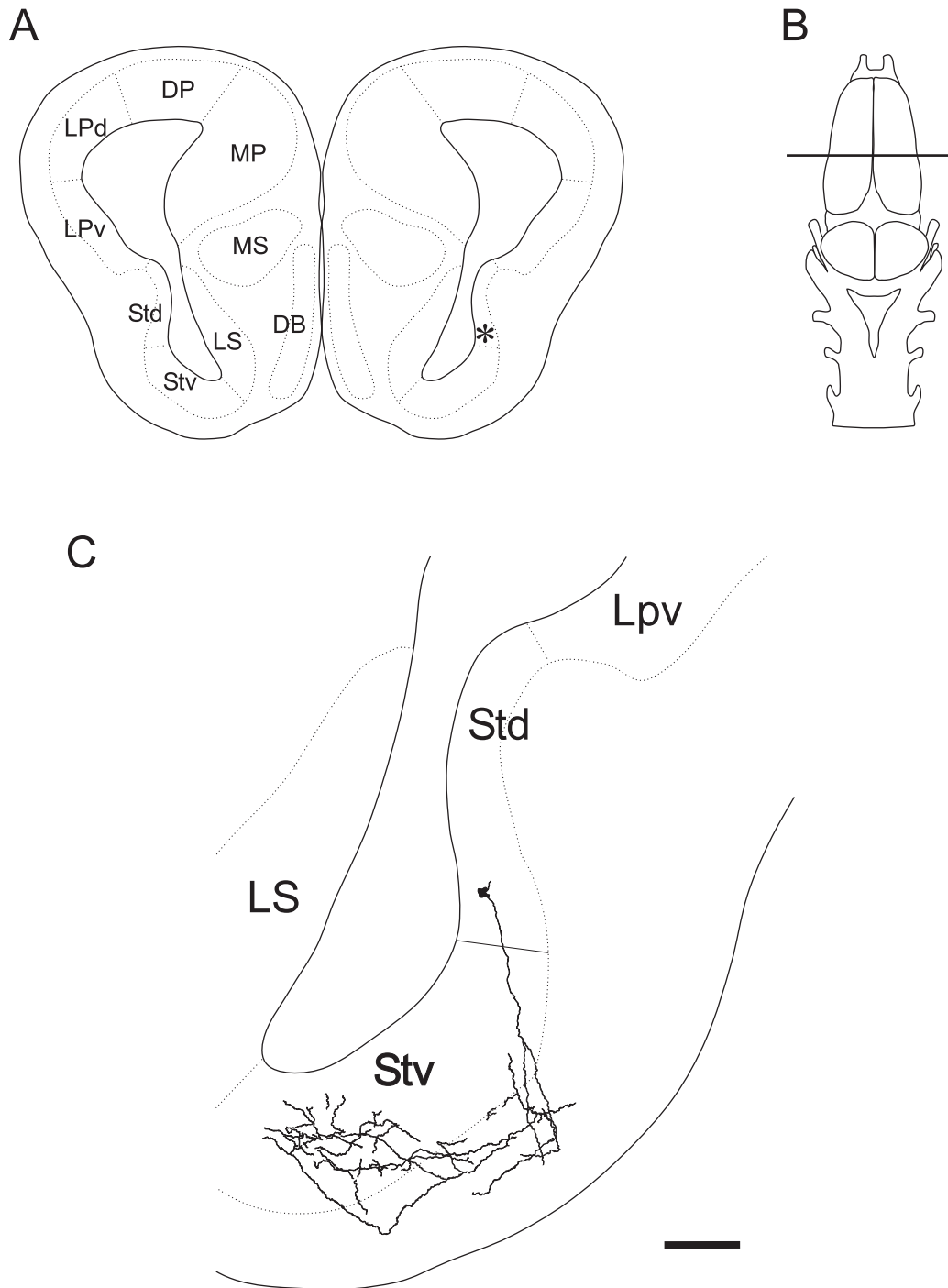


Abb. 44: Rekonstruktion von Neuron Bo/041001/N12. **A** Schematischer Querschnitt des Telencephalon, die Lage des Somas ist markiert (Stern). **B** Ganzhirnaufsicht mit Lage der Schnittebene. **C** Rekonstruiertes Soma mit den proximalen axonalen Projektionen. Maßstab = 100 μ m, für Abkürzungen siehe Liste.

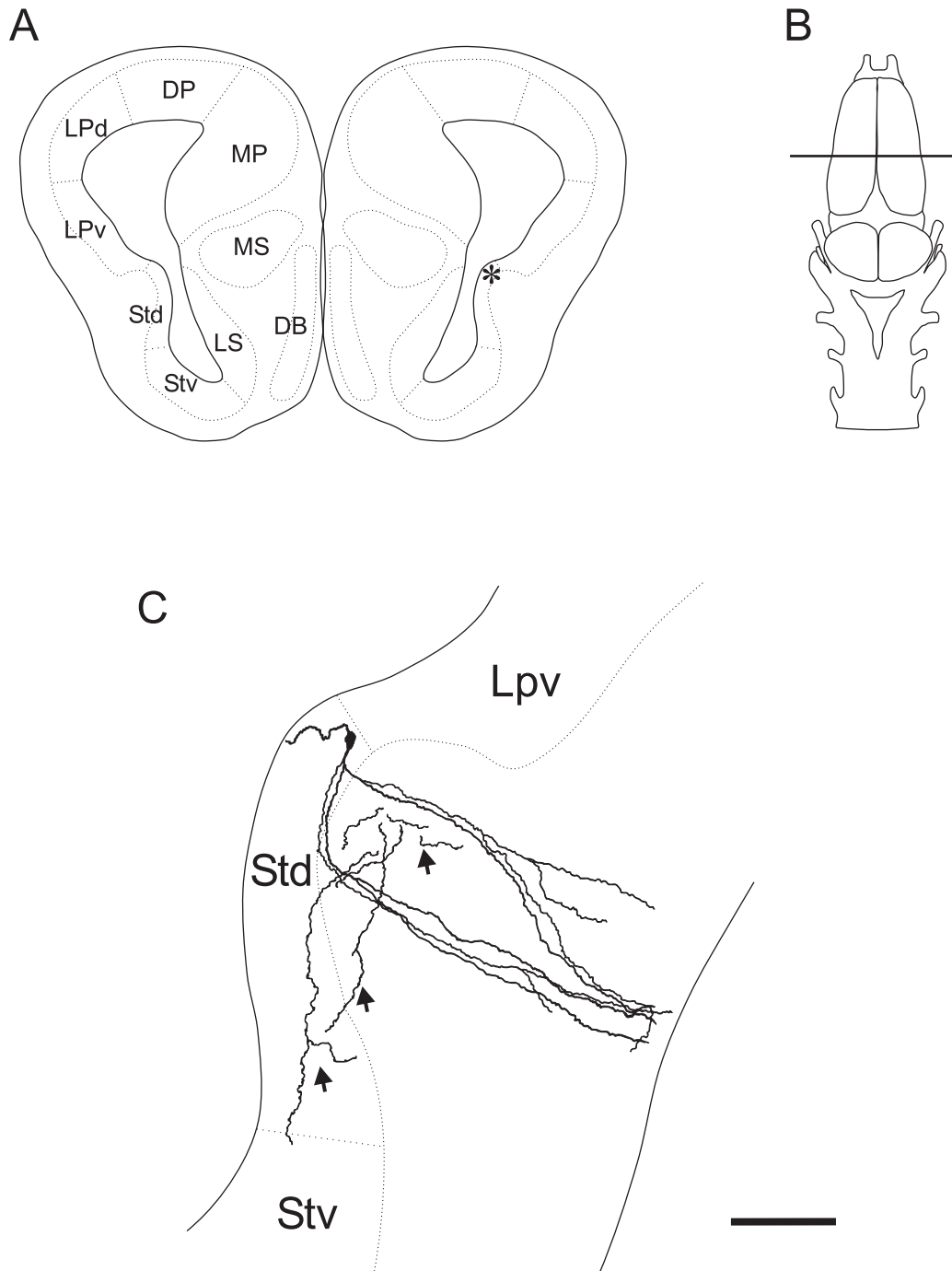


Abb. 45: Rekonstruktion von Neuron Bo/041001/N16. **A** Schematischer Querschnitt des Telencephalon, die Lage des Somas ist markiert (Stern). **B** Ganzhirnaufsicht mit Lage der Schnittebene. **C** Rekonstruiertes Soma mit den proximalen axonalen Projektionen (siehe Pfeile) und den Dendriten. Maßstab = 100 μ m, für Abkürzungen siehe Liste.

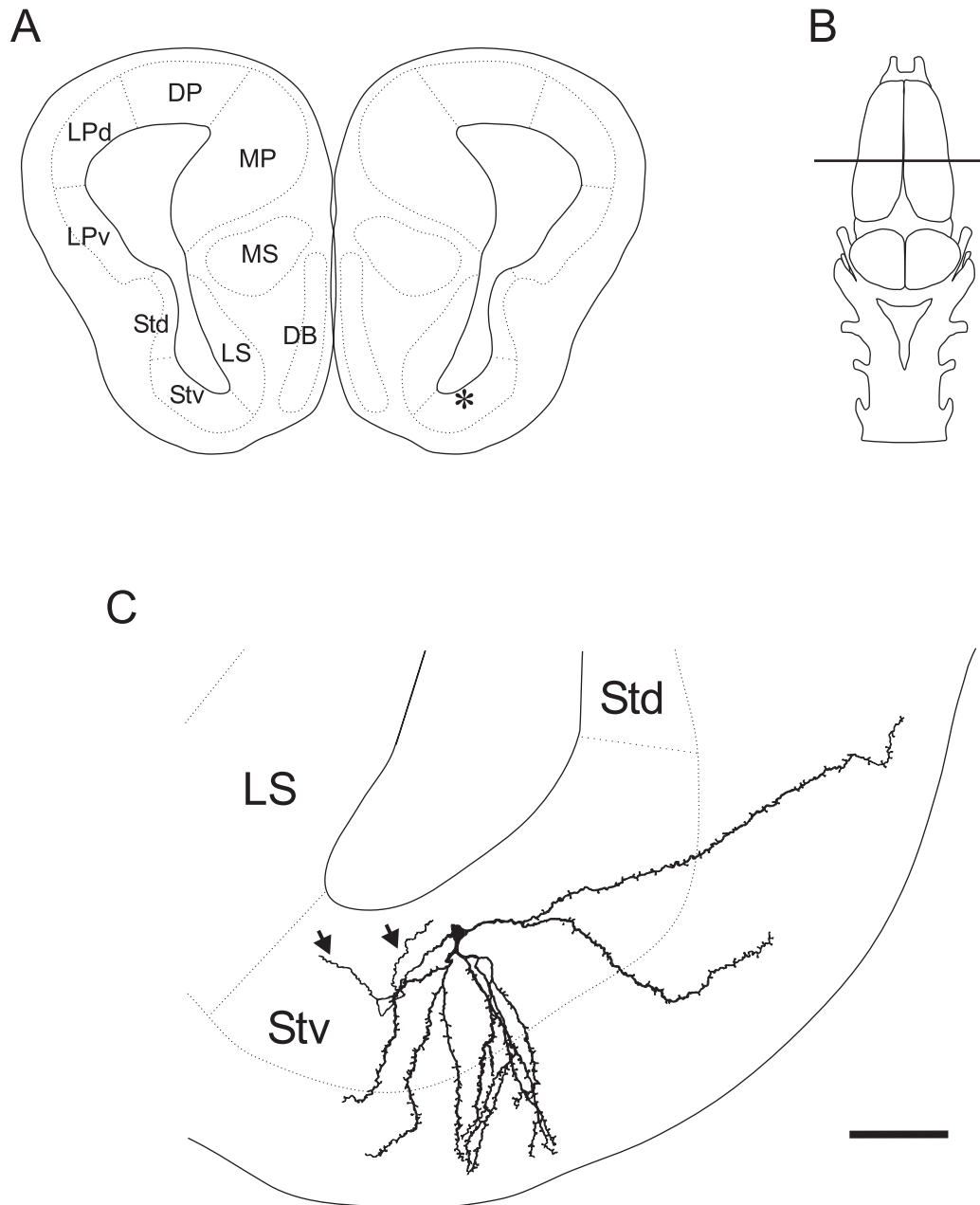


Abb. 46: Rekonstruktion von Neuron Bo/041001/N17. **A** Schematischer Querschnitt des Telencephalon, die Lage des Somas ist markiert (Stern). **B** Ganzhirnaufsicht mit Lage der Schnittebene. **C** Rekonstruiertes Soma mit einem Teil des Axons (siehe Pfeile) und den Dendriten. Maßstab = 100 μ m, für Abkürzungen siehe Liste.



Abb. 47: Rekonstruktion von Bo/261001/N12 mit vier intrazellulär gefüllten Neuronen im caudalen Striatum ventrale. Dargestellt sind die Somata (A), die Dendritenbäume (A) und die axonalen Projektionen (A-J). Vergleiche auch Abb. 48. Maßstab = 500 μ m.

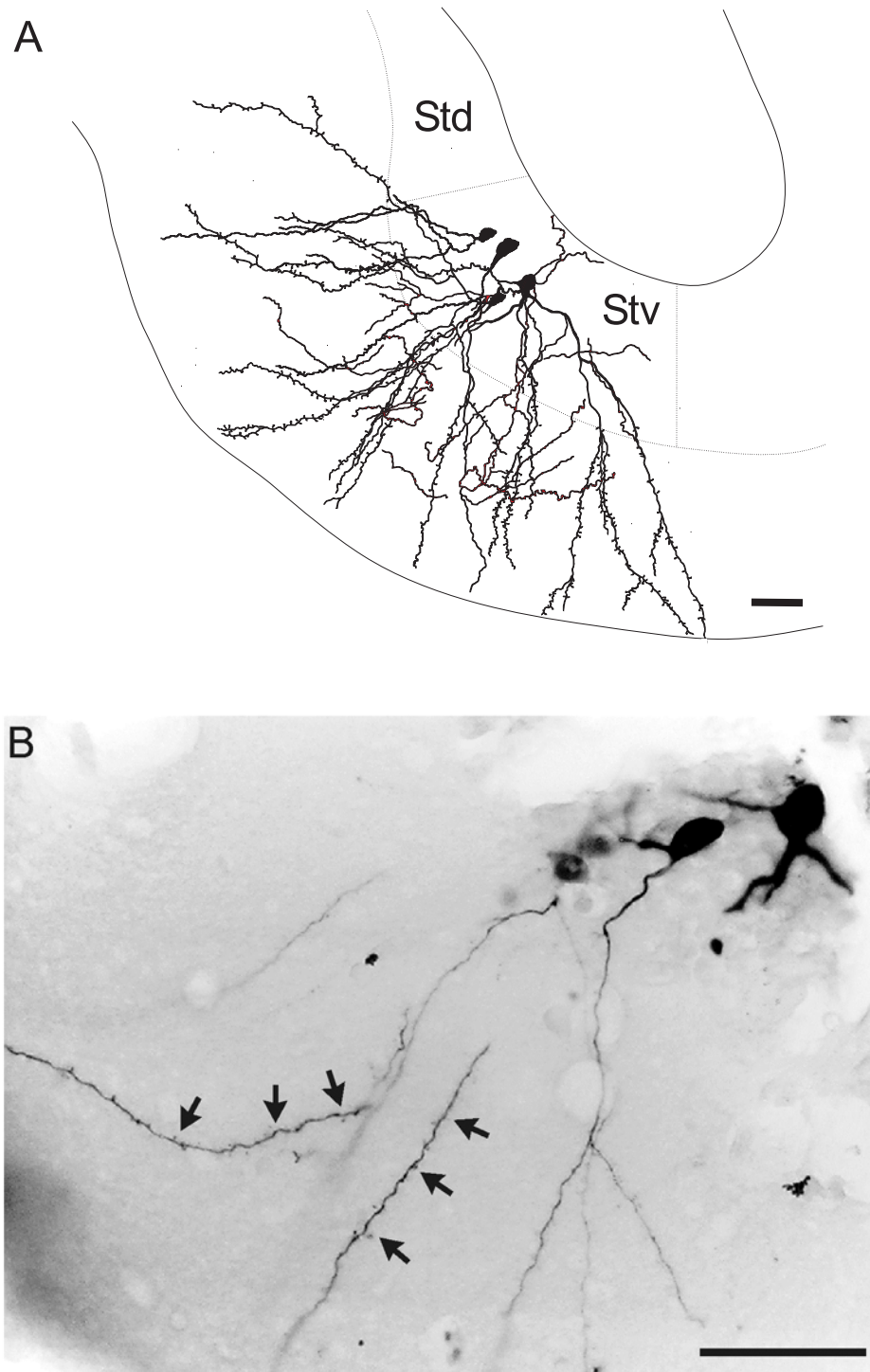


Abb. 48: Transversalschnitte durch das Telencephalon mit Neuronengruppe Bo/261001/N12. **A** Rekonstruktion der vier markierten Somata mit Dendritenbäumen und proximalen axonalen Projektionen. Die Dendriten erstrecken sich zum größten Teil in das laterale Neuropil des Striatum ventrale, nur ein Dendritenast reicht in das Neuropil des Striatum dorsale. Zur Schnittebene vergleiche Abb. 47 A. **B** Mikrofotografie von zwei der angefärbten Neuronen. Die Dendriten sind mit feinen Spines besetzt (Pfeile). Maßstab = 50 μ m, für Abkürzungen siehe Liste.

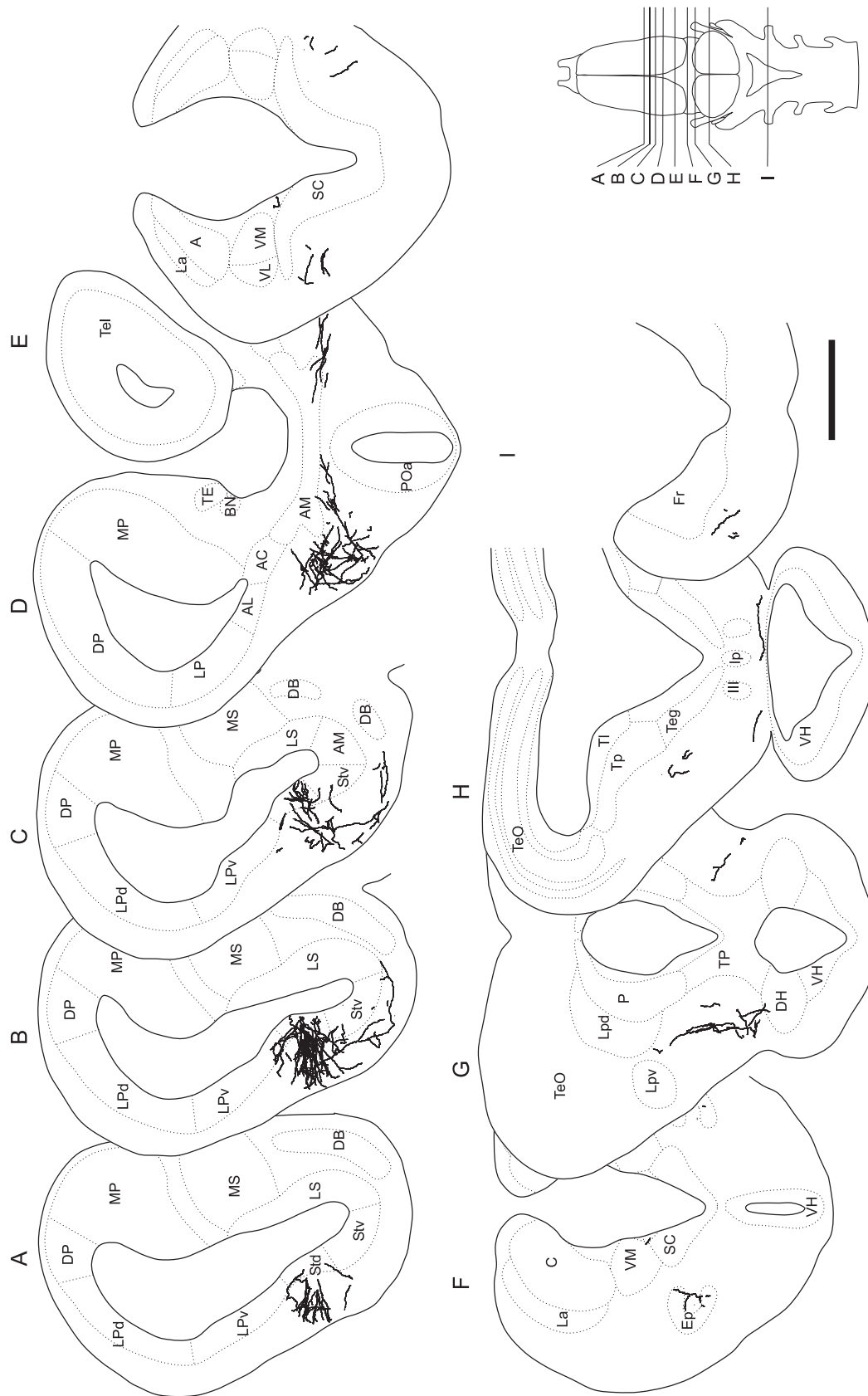


Abb. 49: Rekonstruktion von Bo/151101/N11 mit vier intrazellulär markierten Neuronen im caudalen Striatum dorsale. Dargestellt sind die Somata (B), die Dendritenbäume (A, B) und die axonalen Projektionen (A-I). Vergleiche auch Abb. 50. Maßstab = 500 μ m.

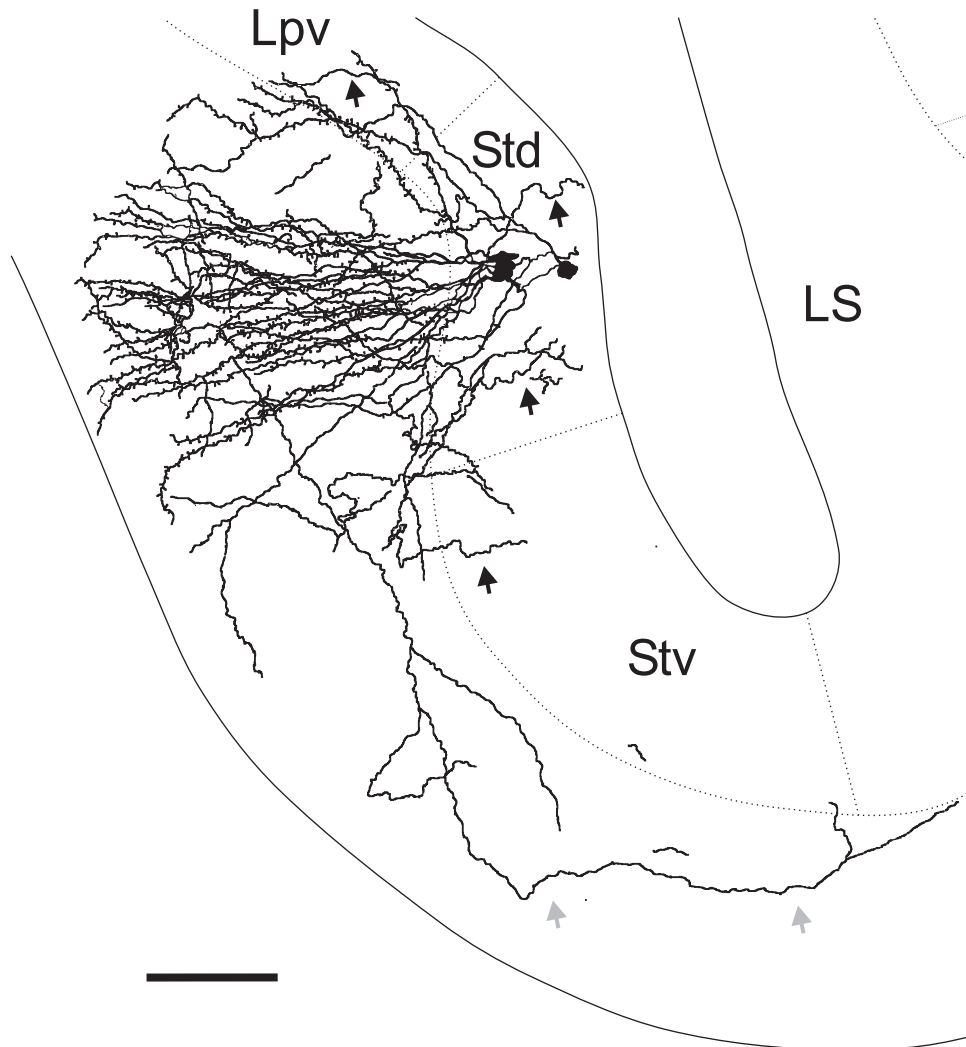


Abb. 50: Rekonstruktion von Neuronengruppe Bo/151101/N11 mit allen Dendritenbäumen und den proximalen axonalen Projektionen. Die Dendriten erstrecken sich in das laterale Neuropil des Striatum dorsale und des Pallium laterale, pars ventrale. Axonale Terminalien finden sich im Striatum dorsale sowie vereinzelt in den Kerngebieten des Striatum ventrale und des Pallium laterale, pars ventrale (schwarze Pfeile). Durch das laterale Neuropil des Striatum ventrale ziehen Projektionsfasern mit wenigen Varikositäten (graue Pfeile). Zur Schnittebene vergleiche Abb. 49 A und B. Maßstab = 100 μ m, für Abkürzungen siehe Liste.

4. Diskussion

4.1. Methodisches

4.1.1. Das *in vitro*-Ganzhirnpräparat

In der vorliegenden Arbeit wurde ein Versuchsansatz gewählt, bei dem das gesamte Gehirn aus dem Organismus isoliert und in einer Nährlösung gehalten wurde. *In vitro*-Präparationen von Amphibiengehirnen sind bei zahlreichen physiologischen und anatomischen Untersuchungen erfolgreich eingesetzt worden (z.B. Sivilotti & Nistri 1986; Nistri et al. 1990; Delaney & Hall 1996; Luksch et al. 1996, 1998; Roth et al. 1999; Roth & Westhoff 1999; Westhoff & Roth 2002). Sie bieten eine Reihe von experimentellen Vorteilen. So sind alle Hirnareale frei zugänglich, was eine einfache Platzierung der Ableitelektrode sowie mehrerer Reizelektroden an unterschiedlichen Stellen erlaubt. Es sind stabilere Ableitungen möglich als bei einem *in vivo*-Präparat, bei dem das Pulsieren des Herzschlags über die Cerebrospinalflüssigkeit auf das Hirngewebe übertragen wird. Auch großflächige Tracerapplikationen lassen sich, unabhängig vom Überleben des Tieres, durchführen. Pharmakologische Substanzen können relativ einfach über die Badlösung oder lokal in gut zugängliche Areale appliziert werden. Das Gehirn zeigt auch nach mehreren Tagen stabile neuronale Antworten und keine Degenerationerscheinungen, so dass vergleichende Untersuchungen an einem Individuum möglich sind. Anders als bei Slice- oder Block-Präparaten bleibt bei Ganzhirnpräparaten die Konnektivität des gesamten Gehirns erhalten.

Allerdings weist das *in vitro*-Präparat auch Einschränkungen auf, die bei der Interpretation der Untersuchungsergebnisse berücksichtigt werden müssen. So werden die natürlichen Stimuli durch elektrische ersetzt. Aufgrund dieser artifiziellen

Stimulussituation können beispielsweise am N. VIII nur zeitliche Muster der natürlichen Rufe der Anuren simuliert werden, während eine selektive spektrale Stimulation nicht möglich ist. Im Gegensatz zu elektrophysiologischen Untersuchungen am wachen, frei beweglichen Tier können die *in vitro* gewonnenen Daten auch nicht direkt in Korrelation zum Verhalten des Tieres gesetzt werden.

Für die in dieser Arbeit zu untersuchenden Fragestellungen erwies sich das *in vitro*-Ganzhirnpräparat jedoch als gut geeignet. Bei den elektrophysiologischen Studien stand die Frage im Vordergrund, welche Hirnareale bzw. Neuronentypen prinzipiell an der Verarbeitung sensorischer Signale beteiligt sind. In vorhergehenden Studien konnte gezeigt werden, dass die physiologischen Antworteigenschaften der Neuronen *in vivo* und *in vitro* gut vergleichbar sind (Delaney & Hall 1996; Luksch 1994; Luksch & Walkowiak 1998; Luksch et al. 1996; Roth et al. 1999). Insbesondere bei den hier durchgeführten Untersuchungen im Striatum erwies sich die freie Zugänglichkeit der Hirnareale als großer Vorteil, da ein Zugang zu ventralen Bereichen des Gehirns *in vivo* nur durch den Gaumen möglich ist und somit an narkotisierten Tieren stattfinden müsste. Durch den Erhalt der gesamten Konnektivität des Gehirns konnten die komplette zentrale Hör- und Sehbahn erregt werden. Unter Berücksichtigung der fehlenden peripheren Strukturen (Haarsinneszellen im Ohr und Retina im Auge) konnte daher von einer guten Vergleichbarkeit der Antwortlatenzen im *in vitro*-Präparat und im intakten Tier ausgegangen werden konnte. Bei den anatomischen Studien waren eine gute Zugänglichkeit der Applikationsorte und eine ausreichende Überlebenszeit des Präparates für einen vollständigen Transport des Markers gegeben. Im Ganzhirnpräparat konnten auch weitreichende axonale Projektionen vollständig rekonstruiert werden. Eine gute Vergleichbarkeit von intrazellulären und extrazellulären Tracings *in vivo* und *in vitro* wurde bereits in anderen anatomischen Studien am Amphibiengehirn nachgewiesen (Luksch 1994; Luksch et al. 1998; Roth et al. 1999; Dicke 1999).

4.1.2. Extrazelluläerableitungen

Extrazelluläerableitungen mit Glasmikroelektroden sind eine bewährte Methode, um *in vitro* und *in vivo* die Reaktion von Nervenzellpopulationen auf äußere Reize oder eine elektrische Stimulation von Bahnverbindungen im Gehirn zu untersuchen. Grundlage für die Entstehung von EPs ist die reizbezogene Aktivierung von Ionenkanälen distinkter Neuronenpopulationen (Leung 1990; Krug 1997). Auch im vorliegenden Präparat konnten EPs im Di- und Telencephalon registriert werden.

Durch die Stimulation des N. VIII und des N. II einzelner Nervenäste sollten spezifische Reaktionen von Neuronenpopulationen auf visuelle und auditorische Reize untersucht werden. Aufgrund unterschiedlicher Latenzen und Polaritäten der EPs nach einer Stimulation der Nerven konnte gezeigt werden, dass die Neuronenpopulationen in der Umgebung der Elektrodenspitze tatsächlich reizspezifisch reagierten.

Bei den hier verwendeten Extrazellulärelektroden konnte davon ausgegangen werden, dass der effektive Radius (Bereich um die Elektrodenspitze, in dem extrazelluläre Potentiale von der Elektrode registriert werden) maximal 300 µm betrug. So wurden im Diencephalon an den lateralen Einstichorten e bis h keine EPs beobachtet (vgl. 3.1.2.4.). Unmittelbar außerhalb der untersuchten thalamischen Region im Diencephalon wurden ebenfalls keine EPs registriert. Da die Maxima der EPs in den thalamischen Kernen an den Einstichorten a bis d jeweils weiter als 300 µm auseinander lagen, konnte mit Hilfe der Extrazellulärableitungen bestimmt werden, welche Kerne des Diencephalon prinzipiell an der Verarbeitung auditorischer Informationen beteiligt sind. Eine präzisere Aussage über Verteilung auditorisch erregbarer Neuronen innerhalb von Subarealen dieser Kerngebiete könnte mit Hilfe von speziellen Metallelektroden getroffen werden, die einen geringeren effektiven Radius aufweisen. Die verwendeten Glasmikroelektroden boten jedoch den Vorteil, die Extrazellulärableitungen direkt mit Tracerapplikationen zu kombinieren, um die Verbindungen der physiologisch charakterisierten Kerngebiete zu untersuchen (Krug 1997).

4.1.3. Extrazelluläre Tracingstudien

Der Marker Neurobiotin wurde bei einer extrazellulären Applikation sehr gut von den Neuronen an der Applikationsstelle aufgenommen, die Nachweisreaktion führte zu einer gleichmäßigen, tiefschwarzen Färbung mit großem Detailreichtum. Vergleichbare Ergebnisse wurden bei extrazellulären Neurobiotin-Applikationen auch von anderen Autoren beschrieben (Kita und Armstrong 1991; Barnes et al. 1994; Huang et al. 1992).

Ein guter anterograder und retrograder Transport von Neurobiotin schien bei allen hier durchgeführten Tracingstudien gegeben zu sein. Ein Vergleich der Tracingstudien in einem bestimmten Kerngebiet mit den Kontrollapplikationen zeigte in der Regel eine gute Übereinstimmung bezüglich der Stärke der afferenten und efferenten Projektionen. Ein guter anterograder Transport des Markers wurde bei

Tracingstudien mit Neurobiotin generell beschrieben (Lapper & Bolam 1991; Huang et al. 1992; Kita & Armstrong 1991; Barnes et al. 1994). Einige Autoren beobachteten jedoch nur einen eingeschränkten retrograden Transport (Kita & Armstrong 1991; Barnes et al. 1994). Barnes et al. (1994) wiesen darauf hin, dass bei ihren Studien an Ratten diese Einschränkungen möglicherweise auf niedrige Applikationsströme (2 μ A für 2 min) bzw. auf eine geringe Neurobiotin-Konzentration (3 %) in der Applikationselektrode zurückzuführen waren. Eine Abhängigkeit von der Applikationsstromstärke konnte bei den hier durchgeführten Tracingstudien nicht festgestellt werden. Vielmehr wurde auch bei vergleichsweise geringen Applikationsströmen von 25 - 250 nA ein guter retrograder Transport des Markers bis in weit entfernte Hirnregionen beobachtet. Der erfolgreiche retrograde Transport könnte auf die vergleichsweise lange Applikationsdauer von 30 min oder auf die höhere Neurobiotin-Konzentration in den Elektroden (10 %) zurückzuführen sein. Ein guter retrograder Transport von Neurobiotin könnte allerdings auch von der Tierart oder von der Hirnregion abhängen.

Barnes et al. (1994) und Izzo (1991) fanden bei Ratten keine Hinweise darauf, dass Neurobiotin und das strukturell sehr ähnliche Biocytin von Fibers of Passage (vgl. 2.5.2.) aufgenommen wurden. Die Tracer wurden, wie in der vorliegenden Arbeit, iontophoretisch appliziert. Die hier durchgeführten Tracingstudien deuten jedoch darauf hin, dass bei Amphibien eine solche Aufnahme vorkommt, was bei der Auswertung der Befunde berücksichtigt wurde (vgl. 4.4.1.1.).

In der Literatur wird von einigen Autoren ein transneuroner Transport von Neurobiotin über chemische Synapsen diskutiert (Huang et al. 1992; Luo & Dessem 1996). Ein solcher Transport müsste bei der Interpretation von Tracingstudien mit Neurobiotin berücksichtigt werden, da er zu Fehlern bei der Beurteilung von angefärbten neuronalen Strukturen führen könnte. Die vermutlich über chemische Synapsen markierten Neuronen lagen bei Luo und Dessem (1996) in einigen Millimetern Entfernung von den intrazellulär markierten Neuronen und waren nicht tiefschwarz, sondern nur schwach grau angefärbt. Vergleichbare Beobachtungen wurden bei Einzelzellanfärbungen im Anurengehirn nicht gemacht (Klein 2000; Westhoff 2000; Endepols & Walkowiak 2001). Auch bei den hier durchgeführten Tracingstudien waren die markierten Somata in der Regel tiefschwarz gefärbt. Bei den wenigen Ausnahmefällen ließ ein Literaturvergleich darauf schließen, dass es sich trotz der schwachen Anfärbung um retrograd markierte Neuronen handelte.

Prinzipiell kann eine extrazelluläre Applikation von Neurobiotin auch in kristalliner Form erfolgen. Wie Vorexperimente zeigten, bot die iontophoretische Applikation

jedoch eine Reihe von Vorteilen. So erlaubte sie eine wesentlich präzisere Platzierung des Markers bei geringerer Gewebeerstörung auch in tiefer im Gehirn gelegenen Kerngebieten und die Kombination mit extrazellulären Ableitungen. Die iontophoretische Applikation bot außerdem die Möglichkeit, anhand der Stärke des Applikationsstroms die Größe der Markierung zu variieren und wesentlich kleinere Durchmesser als bei früheren Tracingmethoden zu gewährleisten. Dadurch war eine präzise Untersuchung der Verbindungen von Subarealen einzelner Kerngebiete möglich.

In der Literatur wird eine deutliche Verringerung der Anfärbungsintensität beschrieben, wenn die Transportzeit von Neurobiotin 48 h überschreitet. Dies könnte auf einen enzymatischen Abbau biotinhaltiger Komponenten in den Zellen bzw. auf eine Ausscheidung der Substanz in den Extrazellulärraum zurückzuführen sein (Kita & Armstrong 1991; Xi & Xu 1996). Eine Verringerung der Farbintensität in Abhängigkeit von der Transportzeit wurde bei den hier durchgeführten Tracingstudien nicht beobachtet. Allerdings wurde der kritische Zeitpunkt von 48 h auch nicht überschritten.

4.1.4. Intrazellulärableitungen

Intrazellulärableitungen mit scharfen Glasmikroelektroden sind bereits erfolgreich bei *in vitro*-Präparaten von Amphibiengehirnen durchgeführt worden, beispielsweise bei *Discoglossus pictus* und *Bombina orientalis* (Walkowiak & Luksch 1994; Luksch 1994; Luksch et al. 1996; Luksch & Walkowiak 1998; Endepols & Walkowiak 1999, 2001; Klein 2000). Bei den hier durchgeführten Intrazellulärableitungen stellte sich heraus, dass im Striatum von *Hyla versicolor* keine stabilen Ableitungen bei einem physiologischen Membranpotential durchzuführen waren, während dies bei *Bombina orientalis* unter vergleichbaren Versuchsbedingungen gelang. In diesem Zusammenhang könnte das größere Volumen der Somata striataler Neuronen von *Bombina orientalis* eine Rolle spielen. So kann bei einem größeren Zellvolumen der Leckstrom unmittelbar nach dem Einstich der Elektrode besser kompensiert werden. Eine andere Methode zur Registrierung der Aktivität einzelner Neuronen wäre die Verwendung von speziellen Extrazellulärelektroden, mit deren Hilfe Aktionspotentiale einzelner oder weniger Neuronen im Extrazellulärraum registriert werden können (Single Unit- bzw. Multi Unit-Ableitungen). Diese Methode bietet den Vorteil, dass die untersuchten Neuronen intakt bleiben (Millar 1992). Sie könnte daher auch bei den kleineren Neuronen im Striatum von *Hyla versicolor* Einzelzellableitungen ermöglichen. Allerdings erlaubt sie nur die Registrierung von APs, während bei

Intrazellulärableitungen zusätzlich IPSPs und EPSPs als Antwort auf einen Stimulus untersucht werden können. Außerdem bieten Intrazellulärableitungen die Möglichkeit, einen Marker, der vor der Ableitung in die Glasmikroelektrode eingebracht wurde, in das untersuchte Neuron zu applizieren (Millar 1992).

4.1.5. Intrazelluläre Einzelzellanfärbungen

Ein großer Detailreichtum und eine gleichmäßige Anfärbung neuronaler Strukturen nach einer intrazellulären Applikation von Neurobiotin wurden auch von anderen Autoren im Gehirn von Anuren (Klein 2000; Endepols & Walkowiak 2001) und von Ratten beobachtet (Kita & Armstrong 1991, Barnes et al. 1994).

Die Neuronen des Striatum von *Bombina orientalis* zeigten keine auffälligen axonalen Endknöpfchen (Boutons) oder Verzweigungen der axonalen Terminalien. Es konnte daher nicht eindeutig festgestellt werden, ob die feinen Axonkollateralen an der Stelle, bis zu der sie lichtmikroskopisch zu verfolgen waren, tatsächlich endeten. Daher können die hier beschriebenen Projektionen nur durch das Ende der sichtbar angefärbten Strukturen definiert werden. Ob in den betreffenden Arealen tatsächlich eine synaptische Verschaltung vorliegt, können nur elektronenmikroskopische Untersuchungen zeigen.

Entscheidend für eine Kombination von elektrophysiologischen Untersuchungen mit anatomischen Studien ist, dass der verwendete Marker die elektrischen Eigenschaften von Neuronen nicht beeinträchtigt. Xi und Xu (1996) stellten bei Intrazellulärableitungen an neostriatalen Neuronen der Ratte über einen Zeitraum von 30 min keine signifikanten Effekte von Neurobiotin auf die elektrische Aktivität der Neuronen fest. Die elektrischen Eigenschaften von Hypothalamusneuronen der Ratte wurden durch Lucifer yellow verändert, durch Ethidiumbromid und das dem Neurobiotin sehr ähnliche Biocytin jedoch nicht beeinflusst (Tasker et al. 1991).

Ein transneuronaler Transport von Neurobiotin über chemische Synapsen, wie er von Luo und Dessem (1996) und Huang et al. (1992) diskutiert wurde (vgl. 4.1.3.), konnte bei den Intrazellulärableitungen im Striatum von *Bombina orientalis* nicht beobachtet werden. In der vorliegenden Arbeit lässt die räumliche Nähe der in Clustern angefärbten Neuronen und die gleichmäßige tiefschwarze Anfärbung der Somata vielmehr auf eine elektrische Kopplung der Zellen über Gap junctions schließen. Der Transport von Neurobiotin bzw. Biocytin über Gap junctions wurde bei Säugern (Mills & Massey 1994; Vaney 1991, 1993; Peinado et al. 1993) und bei Amphibien beobachtet (Luksch 1994; Westhoff 2000; Klein 2000; Endepols & Walkowiak 2001;

Roth et al. im Druck). Der transneuronale Transport kann dabei nicht nur über Somata, sondern auch über Dendriten und Axone stattfinden (Rao et al. 1986; Kawaguchi et al. 1989; Wiggers 1998). Gap junctions sind bei allen Wirbeltieren in unterschiedlichem Ausmaß vorhanden (Dermietzel & Spray 1993). Funktionelle Bedeutung könnten sie bei der Synchronisierung neuronaler Aktivität haben (Ulinski 1976). Die elektrische Kopplung benachbarter Neuronen im Striatum von Anuren weist also auf funktionelle Einheiten aus mehreren benachbarten Neuronen hin.

4.2. Der Thalamus

Der Thalamus der Anuren ist, wie bei Amnioten (Reptilien, Vögel und Säuger), eine wichtige sensorische Relaisstation. Bei Säugern erfolgt die Weiterleitung sensorischer Informationen zum Telencephalon über dorsale Thalamuskern, während Kerne des ventralen Thalamus oder Subthalamus an der motorischen Steuerung beteiligt sind (Herrero et al. 2002). Bei Anuren werden aufsteigende sensorische Informationen hingegen nicht nur im dorsalen, sondern auch im ventralen Thalamus verarbeitet. So erhalten Kerne des ventralen Thalamus beispielsweise visuelle (Montgomery & Fite 1989, 1991; Roth et al. im Druck) und somatosensorische Eingänge (Munoz et al. 1994, 1995). Bezüglich der Verarbeitung auditorischer Informationen ist dem ventralen Thalamus jedoch bisher praktisch keine Beachtung geschenkt worden. Vielmehr wurde davon ausgegangen, dass alleine die dorsalen Thalamuskern Teil der aufsteigenden Hörbahn sind. Die elektrophysiologischen und anatomischen Untersuchungen der vorliegenden Arbeit zeigten jedoch, dass auch der ventromediale Thalamus auditorische Eingänge erhält. Bezüglich der Verschaltungen der thalamischen Kerne untereinander konnten anhand der durchgeführten anatomischen Studien außerdem neue, detaillierte Informationen gewonnen werden. Nachfolgend wird dargestellt, inwieweit die vorliegenden Befunde das bisherige Modell auditorischer Verarbeitung im Diencephalon unterstützen und in welchen Punkten es erweitert werden kann. Die mögliche Rolle einzelner thalamischer Kerne bei der sensomotorischen Integration wird in Kap. 4.5. diskutiert.

4.2.1. Physiologische Befunde

4.2.1.1. Extrazellulärableitungen

Die in der vorliegenden Arbeit registrierten EPs im Thalamus von *Hyla versicolor* entsprachen in ihrem Verlauf im Wesentlichen methodisch vergleichbaren *in vivo*-Untersuchungen bei anderen Anurenarten (Mudry et al. 1977; Megela 1982; Megela & Capranica 1983; Mudry & Capranica 1987a, b; Hall & Feng 1987). So beschreiben die Autoren in verschiedenen thalamischen Kernen ebenfalls eine große negative Auslenkung der EPs nach akustischer Stimulation. Die Mehrzahl der in der Literatur beschriebenen Extrazellulärableitungen im Diencephalon beschränkte sich auf den centralen und posterioren Thalamus. Lediglich Megela (1982) und Megela und Capranica (1983) führten bei *Rana catesbeiana* zusätzlich Extrazellulärableitungen im anterioren, lateralen und ventromedialen Thalamus durch und registrierten auch in diesen Kerngebieten EPs. Die hier durchgeführten Untersuchungen belegen, in Übereinstimmung mit den früheren Studien, auditorische Eingänge des posterioren, centralen, anterioren und ventromedialen Thalamus. Im Gegensatz zu den Untersuchungen von Megela (1982) und Megela und Capranica (1983) wurden in der vorliegenden Arbeit keine EPs im lateralen Thalamus registriert. Da die Autoren keine Angaben zur genauen Lage des Ableitortes machen, ist ein direkter Vergleich der Untersuchungen jedoch schwierig. Die Registrierung von EPs im ventromedialen Thalamus nach akustischer Stimulation (Megela 1982; Megela & Capranica 1983) fand bisher kaum Aufmerksamkeit. Die hier vorliegenden elektrophysiologischen Untersuchungen bestätigen jedoch auditorische Eingänge des ventromedialen Thalamus und weisen damit auf eine mögliche, bisher unbeachtete Rolle dieses Kerngebietes bei der Verarbeitung aufsteigender auditorischer Informationen hin. Die hier durchgeführten Tracingstudien belegen, in Ergänzung zu den physiologischen Befunden, Eingänge des ventromedialen Thalamus aus vorgeschalteten Hörbahnstationen (vgl. 4.2.2.1.). Eindeutigen Aufschluss über die Art (inhibitorisch/exzitatorisch) und die Stärke dieses auditorischen Eingangs können jedoch nur Intrazellulärableitungen in Neuronen des ventromedialen Thalamus geben.

Angaben zu Absolutwerten der Latenzen der EPs im Thalamus fehlen in den oben zitierten Veröffentlichungen, so dass ein Literaturvergleich der Werte nicht möglich ist. Bei den vorliegenden Untersuchungen wurden im ventralen Thalamus die kürzesten Latenzen gemessen. Dies lässt darauf schließen, dass aufsteigende auditorische Informationen diesen Kern vor den dorsalen Arealen erreichen. Auch im

visuellen System erhält der ventrale Thalamus mono- oder oligosynaptische retinale Eingänge, während die dorsalen Thalamuskern polysynaptisch angesteuert werden (Roth et al. im Druck). Dabei ist es möglich, dass der ventrale Thalamus visuelle Informationen zum dorsalen Thalamus weiterleitet. Gemäß der hier gemessenen Latenzen der EPs könnten auditorische Informationen zum Teil ebenfalls über synaptische Eingänge aus dem ventralen zum dorsalen Thalamus gelangen. Die Tracingstudien belegen die Existenz entsprechender Verbindungen innerhalb des Thalamus (vgl. 4.2.2.1.). Die Latenzen der dorsalen Thalamuskern unterschieden sich nicht signifikant voneinander, was auf parallele Eingänge aus vorgeschalteten Hörbahnstationen hinweist. Entsprechende Verbindungen wurden ebenfalls durch die anatomischen Studien belegt (vgl. 4.2.2.1.).

In der vorliegenden Arbeit wurde mit 7 - 18 s eine sehr lange Gesamtdauer der EPs beobachtet. Bei den oben zitierten Veröffentlichungen lag die Gesamtdauer der EPs im Thalamus hingegen unterhalb von 1 s. Es könnte sein, dass die hier registrierte Dauer der EPs auf ein Messartefakt zurückzuführen ist. Albert Feng (University of Illinois, Urbana, persönliche Mitteilung) vermutet jedoch, dass sie zumindest teilweise die Aktivität thalamischer Neuronen widerspiegelt. So wurden bei Single Unit-Ableitungen im Thalamus von Anuren einzelne Neuronen gefunden, die als Antwort auf kurze akustische Stimuli mit einer Antwort von mehreren Sekunden Dauer reagierten (Feng et al. 1990). Möglicherweise wurden die lang andauernden Anteile der EPs im Thalamus von anderen Autoren nicht beobachtet, weil sie während der Aufzeichnung herausgefiltert wurden. Hall und Feng (1987) verwendeten z.B. einen Bandpassfilter von 1 - 400 Hz.

In der vorliegenden Arbeit wurden die größten Amplituden der EPs im posterioren Thalamus und die kleinsten im anterioren Thalamus gemessen. Bei Untersuchungen von Hall und Feng (1987) wiesen die EPs im centralen Thalamus größere Amplituden auf als im posterioren Thalamus. Die Amplituden im anterioren Thalamus waren, soweit dies aus den Abbildungen der Registrierungen ersichtlich ist, kleiner als im centralen und posterioren Thalamus (Megela 1982). Bei einem Vergleich der Literaturangaben mit den vorliegenden Ergebnissen muss beachtet werden, dass Neuronen in bestimmten thalamischen Kerngebieten selektiv auf bestimmte Parameter akustischer Signale reagieren und dass sich die Amplitude der EPs in Abhängigkeit von diesen Parametern ändert (Megela & Capranica 1983; Mudry & Capranica 1987a, b; Hall & Feng 1986, 1987). Der in den vorliegenden Untersuchungen verwendete Standardstimulus berücksichtigte die zeitlichen und spektralen Parameter art eigener Rufe von *Hyla versicolor* jedoch nicht (vgl. 4.1.1.).

Ein Vergleich der Amplituden der hier registrierten EPs mit den Untersuchungen *in vivo* oder gar unter natürlichen Bedingungen erscheint daher wenig sinnvoll.

Bei den im ventromedialen Thalamus gemessenen EPs konnten bei einigen Registrierungen zwei negative Maxima unterschieden werden. Bei den übrigen Registrierungen im ventromedialen Thalamus könnten eventuell vorhandene Maxima durch ein Plateau verbunden gewesen sein. Bei denjenigen Registrierungen, bei denen die beiden Maxima der EPs klar zu unterscheiden waren, trat das erste Maximum im ventromedialen Thalamus immer früher auf als das singuläre Maximum im centralen Thalamus am selben Einstichort. Dies bestätigt die Annahme, dass auditorische Informationen den ventralen Thalamus vor dem dorsalen Thalamus erreichen. Das zweite Maximum im ventromedialen Thalamus wurde hingegen stets nach dem Maximum im centralen Thalamus erreicht. Diese Beobachtung lässt den Schluss zu, dass auditorische Informationen nach einer Verarbeitung in anderen Hirnregionen erneut zu einer Erregung von Neuronen des ventromedialen Thalamus führen. Bei den zwischengeschalteten Verarbeitungsstationen könnte es sich sowohl um Kerne des dorsalen Thalamus als auch um telencephale Kerngebiete handeln. Zukünftige Extrazellulärableitungen im ventromedialen Thalamus nach gezielten Läsionen der in Frage kommenden Kerngebiete könnten zeigen, in welchen Fällen das zweite Maximum nicht mehr auftritt.

4.2.1.2. Habituationseffekte

Um Habituationseffekte zu vermeiden, musste bei Extrazellulärableitungen im Thalamus von *Hyla versicolor* der N. VIII mit Interstimulusintervallen von über 20 s stimuliert werden. Ähnliche Beobachtungen wurden auch bei Extrazellulärableitungen *in vivo* gemacht. Habituationseffekte im Thalamus traten bei *Rana pipiens* bei Interstimulusintervallen unterhalb von 10 s (Mudry et al. 1977), bei *Rana catesbeiana* unterhalb von 20 s bzw. 30 s (Megela & Capranica 1983; Mudry & Capranica 1987a) und bei *Hyla cinerea* unterhalb von 100 s (Mudry & Capranica 1987b) auf. Die hier beobachtete Habituation ist also kein Artefakt der *in vitro*-Präparation, sondern scheint ein generelles Charakteristikum thalamischer Neuronenpopulationen von Anuren zu sein. Dabei können die hier ermittelten Werte gut mit Literaturangaben verglichen werden. Eine starke Habituation im Thalamus der Anuren wurde auch bei taktiler und visueller Stimulation beobachtet (Brown & Marks 1977; Roth et al. im Druck). Differenzen in der Stärke der Habituation könnten artspezifisch sein. So wurden im Thalamus von *Hyla cinerea* und *Rana catesbeiana* nach akustischer Stimulation unterschiedlich starke

Habituationseffekte unter gleichen Versuchsbedingungen beobachtet (Mudry & Capranica 1987a, b).

Innerhalb der aufsteigenden Hörbahn der Anuren konnte eine Zunahme der Habituation beobachtet werden. So zeigten Fasern des N. VIII keinerlei Habituationseffekte. Im Torus semicircularis trat eine Habituation erst bei Interstimulusintervallen unterhalb von 1 - 2 s auf (Potter 1965; Loftus-Hills & Johnstone 1970; Megela & Capranica 1983). Auch bei Säugern zeigten weder der N. VIII noch zentralnervöse Hörbahnstationen unterhalb des Thalamus eindeutig Habituationseffekte (Hall 1968; Jaffe et al 1969; Webster 1971; Webster & Bock 1971; Wickelgren 1968). Im Corpus geniculatum mediale und anderen thalamischen Kernen wurde hingegen eine Habituation beobachtet. Sie trat aber erst bei Interstimulusintervallen unterhalb von 0,2 - 1 s auf (Wester 1971; Wickelgren 1968) und war folglich weniger stark ausgeprägt als bei Anuren.

Megela und Capranica (1983) untersuchten im Thalamus von *Rana catesbeiana*, ob es sich bei der beobachteten Abhängigkeit der Amplitude der EPs vom Interstimulusintervall tatsächlich um einen Habituationseffekt handelte. Nach Thompson und Spencer (1966) kann bei der Erfüllung folgender Kriterien von einer Habituation der Antwort gesprochen werden: (1) Eine Verminderung der Antwort bei kontinuierlicher Reizung, (2) spontane Erholung nach einer Stimulationspause und (3) Dishabituation durch die kurze Darbietung eines anderen Stimulus. Diese drei Kriterien wurden bei den Untersuchungen im Thalamus von *Rana catesbeiana* erfüllt (Megela & Capranica 1983). In der vorliegenden Arbeit wurden die beiden erstgenannten Kriterien ebenfalls beobachtet und somit eine Habituation der Antworten auch im Thalamus von *Hyla versicolor* nachgewiesen. Megela und Capranica (1983) wiesen signifikante Habituationseffekte nur im posterocentralen (Nomenklatur von Frontera [1952]) und anterioren Thalamus, nicht jedoch im lateralen und ventromedialen Thalamus nach. In der vorliegenden Arbeit wurden in allen untersuchten thalamischen Kernen Habituationseffekte beobachtet. Ob die Diskrepanz in den Befunden auf Artunterschiede, präparative Unterschiede (*in vivo*- bzw. *in vitro*-Präparat) oder experimentelle Unterschiede (akustische bzw. elektrische Stimulation) zurückzuführen ist, kann an dieser Stelle nicht beantwortet werden.

Bei *Hyla versicolor* steht die starke Habituation thalamischer Neuronen im Kontrast zum Rufverhalten, bei dem die Männchen im Durchschnitt mit einem Interstimulusintervall von 5 s rufen (Gerhardt & Huber 2002). Dies lässt vermuten, dass der Thalamus nicht notwendigerweise an der Ruferkennung beteiligt ist. Auch Läsionsstudien bei Weibchen von *Hyla versicolor* weisen darauf hin, dass der Torus

semicircularis und nicht der Thalamus die entscheidende Station für die Ruferkennung ist. Der Thalamus scheint vielmehr eine Rolle bei der Aufmerksamkeitssteuerung oder im Zusammenhang mit dem Motivationsstatus der Tiere zu spielen (Endepols et al. eingereicht [a]). Ähnliche Funktionen des Thalamus konnten auch bei Säugern nachgewiesen werden. So belegten verschiedene Studien die Beteiligung thalamischer Kerne bei Organisations- und Planungsprozessen, selektiver Aufmerksamkeitssteuerung und bei Prozessen der Entscheidungsfindung (Hazlett et al. 2001; Ernst et al. 2002; Leathem & Martin 2001).

Unklar ist, welche Funktion die Habituation des Thalamus der Anuren hat und wie thalamische Neuronen in ausreichendem Maße aktiviert bleiben, wenn viele Männchen einen Chorus bilden und mehrere Stunden lang repetitiv rufen. Bisher gibt es zur Habituation im Thalamus keine Untersuchungen, bei denen wache und paarungsbereite Individuen mit arteigenen Rufen stimuliert wurden. Möglicherweise verändert sich die Habituation während der Paarungszeit in Abhängigkeit vom inneren Status der Tiere. So könnte beispielsweise der Hormonstatus eine wichtige Rolle spielen. Bei Ratten konnte etwa bezüglich der Habituation auditorischer Zentren des Mittelhirns eine Abhängigkeit von Neurosteroiden nachgewiesen werden (Disney & Calford 2001). In Situationen, in denen ein akustischer Stimulus als nicht-verhaltensrelevant eingestuft wird, könnte es aufgrund der Habituation von Vorderhirnzentren zur Unterdrückung einer unangemessenen Reaktion der Tiere kommen. Eine Dishabituation durch eine Änderung der Reizparameter, wie sie im Thalamus von Anuren nachgewiesen werden konnte (Megela & Capranica 1983), würde wieder zu erhöhter Aufmerksamkeit führen, um eine Verhaltensrelevanz der neuen Umweltsituation zu überprüfen. Die Habituation könnte auch im Zusammenhang mit Lernprozessen stehen. Sie stellt generell eine einfache Form nicht-assoziativen Lernens dar (Groves & Thompson 1970). Bedeutung könnten solche Lernprozesse beispielsweise bei der Nachbarerkennung der Männchen haben. So lernen die Männchen bestimmter Anurenarten, die ihnen über einen längeren Zeitraum bekannten Artgenossen benachbarter Territorien von fremden Eindringlingen zu unterscheiden (Bee & Schachtman 2000). Im Zusammenhang mit der Nachbarerkennung wird der Habituation als Lernform allgemein Bedeutung zugemessen (Shettleworth 1998).

4.2.2. Anatomische Befunde

4.2.2.1. Auditorische Eingänge des Thalamus

Nach dem bisherigen Modell der Hörbahn der Anuren erreichen auditorische Informationen den posterioren, centralen und anterioren Thalamus aus vorgeschalteten Hörbahnstationen, nämlich aus dem Torus semicircularis, dem Nucleus lemnisci lateralis und der Oliva superior (z.B. Feng 1986a; Hall & Feng 1987; Feng & Lin 1991). Die durchgeführten Tracingstudien stehen in guter Übereinstimmung mit diesen Befunden.

Eine mögliche Rolle des ventromedialen Thalamus bei der Verarbeitung auditorischer Informationen wurde hingegen in der Literatur kaum berücksichtigt. Die durchgeführten Tracingstudien zeigen jedoch - in guter Übereinstimmung mit den physiologischen Befunden der Extrazellulärableitungen (vgl. 4.2.2.1.) - dass auch der ventromediale Thalamus Eingänge aus vorgeschalteten Hörbahnstationen erhält. So wurden bei Tracerapplikationen im ventromedialen Thalamus retrograd markierte Neuronen im Nucleus laminaris und - zu einem geringeren Anteil - im Nucleus principalis und magnocellularis des Torus semicircularis gefunden. Zusätzlich könnten aufsteigende Axone aus Hörbahnstationen der Medulla oblongata distale Dendriten ventromedialer thalamischer Neuronen erreichen. Diese Dendriten erstreckten sich weit über das Kerngebiet hinaus in den ventrolateralen Bereich des Diencephalon. Axonale Projektionen zu diesen Dendriten wurden bei den Tracingstudien innerhalb der Grenzen des ventromedialen Thalamus nicht erfasst. Ob entsprechende synaptischen Kontakte wirklich existieren, können nur elektronenmikroskopische Untersuchungen zeigen.

Der ventromediale Kern selbst war mit allen anderen thalamischen Kernen der aufsteigenden Hörbahn verschaltet. Er könnte somit an der Weiterleitung auditorischer Informationen innerhalb des Diencephalon maßgeblich beteiligt sein. Besonders stark waren reziproke Verbindungen mit dem ipsilateralen und contralateralen posterioren Thalamus. Außerdem war der ventromediale Thalamus reziprok mit dem anterioren und mit dem centralen Thalamus verschaltet. Untersuchungen zu den Verbindungen des posterioren und centralen Thalamus wurden von Hall und Feng (1987) mit Hilfe von HRP-Applikationen im Gehirn von *Rana pipiens* durchgeführt. Die Autoren wiesen ebenfalls eine reziproke Verbindung zwischen dem ventromedialen und dem posterioren Thalamus nach. Bei ihren Studien war die Verbindung allerdings nur schwach und auf die ipsilaterale Seite beschränkt. Nach Applikationen im centralen Thalamus fanden sie keine retrograd

markierten Somata im ventromedialen Thalamus und nur wenige anterograd markierte Terminalien auf der ipsilateralen Seite. Die Differenzen im Vergleich zu den vorliegenden Studien könnten auf Artunterschiede zurückzuführen sein. Es muss jedoch vor allem berücksichtigt werden, dass es sich bei Neurobiotin um einen sehr sensitiven Tracer handelt, bei dem auch feine axonale Verzweigungen dargestellt werden und bei dem ein sehr guter anterograder und retrograder Transport nachgewiesen wurde (vgl. 4.1.3.). Die Unterschiede in den Ergebnissen ließen sich somit auch methodisch erklären. Da die hier vorliegenden Befunde generell ergänzende Informationen zu den von Hall und Feng (1987) beschriebenen Befunden zeigen und keine der von ihnen nachgewiesenen Verschaltungen widerlegen, erscheint die höhere Sensitivität der Tracingmethode eine sehr wahrscheinliche Erklärung. Dafür spricht auch, dass andere Autoren mit neu entwickelten Tracingmethoden ebenfalls ergänzende Informationen zu den Studien von Hall und Feng gefunden haben. So beschreiben beispielsweise Marín et al. (1997c) nach BDA-Applikationen im centralen Thalamus retrograd markierte Somata im Striatum, die von Hall und Feng nicht beobachtet wurden.

Die vorliegenden Tracingstudien geben außerdem neue Hinweise bezüglich der Eingänge des anterioren Thalamus aus anderen thalamischen Kernen. Bei Tracerapplikationen im anterioren Thalamus wurden sowohl im ventromedialen als auch im posterioren Thalamus mehr Neuronen markiert als im centralen Thalamus. Außerdem wurden beim posterioren und ventromedialen Thalamus Hinweise auf schwache Projektionen zum contralateralen anterioren Thalamus gefunden. Dieser Befund gibt Hinweise darauf, dass der anteriore Thalamus auditorische Informationen insbesondere aus dem ventromedialen und posterioren Thalamus erhalten könnte. Die hier beschriebenen Verschaltungen des anterioren Thalamus ergänzen ebenfalls die Befunde von Hall und Feng (1987). Die Autoren fanden lediglich Hinweise auf sehr schwache Projektionen vom posterioren Thalamus zum ipsilateralen anterioren Thalamus.

Hall und Feng (1986, 1987) und Feng et al. (1990) vermuteten aufgrund von physiologischen und anatomischen Studien, dass temporale und spektrale Parameter auditorischer Informationen im Vorderhirn der Anuren parallel verarbeitet werden. So wurde anhand von Extrazellulärableitungen nachgewiesen, dass der centrale Thalamus an der Verarbeitung temporaler Parameter akustischer Signale beteiligt ist. Neuronen des posterioren Thalamus reagierten hingegen insbesondere auf bestimmte spektrale Parameter der Signale (Mudry et al. 1977; Megela 1982; Megela & Capranica 1983; Fuzessery & Feng 1983; Mudry & Capranica 1987a, b;

Hall & Feng 1986, 1987; Feng et al. 1990). Beide Parameter sind für die Weibchen entscheidende Merkmale bei der Wahl ihrer Geschlechtspartner (für einen Überblick siehe Gerhardt & Huber 2002). Interessanterweise wurden im anterioren Thalamus nicht-linear verstärkte Antworten auf Kombinationen bestimmter Frequenzen registriert, die den Antworteigenschaften der Neuronen im posterioren Thalamus ähnelten (Megela 1982; Hall & Feng 1987). Dies deutet auf eine funktionelle Verknüpfung der beiden Kerne hin. Über den anterioren Thalamus erreichen auditorische Informationen das Pallium mediale. Bei diesem Projektionsweg könnte folglich die Weiterleitung spektraler Parameter akustischer Signale im Vordergrund stehen. Über einen parallelen Projektionsweg vom centralen Thalamus zum Striatum könnten hingegen Informationen über temporale Parameter akustischer Signale zum Telencephalon weitergeleitet werden (Hall & Feng 1986, 1987; Feng et al. 1990). Die vorliegenden Tracingstudien unterstützen das Modell auf der anatomischen Ebene und belegen eindeutiger als bisher die anatomische Verbindung des posterioren und anterioren Thalamus. Noch unklar ist, welche Rolle der ventromediale Thalamus bei der Verarbeitung unterschiedlicher Parameter akustischer Signale hat. Bisher liegen keine ausreichenden physiologischen Untersuchungen in diesem Kerngebiet vor. Die vergleichsweise enge Verschaltung mit dem anterioren und posterioren Thalamus könnte jedoch ein Hinweis auf eine funktionelle Kopplung sein. Hall und Feng (1987) warfen die Frage auf, ob die beiden parallelen Verarbeitungswege auditorischer Informationen innerhalb des Telencephalon konvergieren. Nach den vorliegenden Tracingstudien gibt es nach wie vor keine Hinweise darauf, da das Pallium mediale und das Striatum nur sehr schwache Verbindungen aufwiesen.

Abb. 51 zeigt vereinfacht (nur unter Berücksichtigung der stärkeren Verbindungen) die Eingänge des Thalamus aus dem Torus semicircularis, die Verschaltung der thalamischen Kerne untereinander und ihre Projektionen zum Telencephalon. Aus diesem Schema wird die mögliche parallele Weiterleitung auditorischer Informationen zum Striatum und zum Pallium mediale ersichtlich. Eine Parallelverarbeitung unterschiedlicher Parameter auditorischer Informationen könnte eine verbreitete Strategie innerhalb der Vertebraten sein. Sie wurde z.B. auch bei Fledermäusen (Suga 1984) und bei Eulen (Takahashi et al. 1984) nachgewiesen.

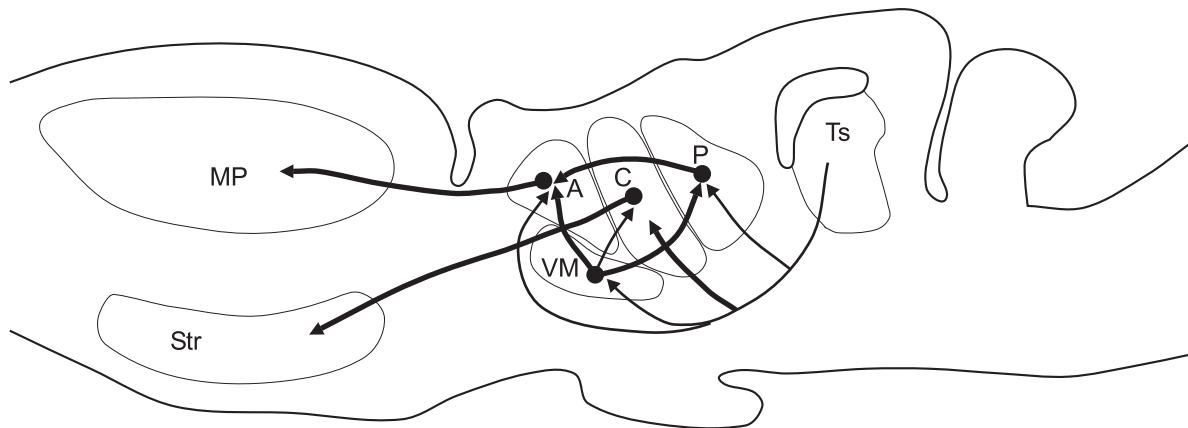


Abb. 51: Afferente Eingänge des Thalamus aus dem Torus semicircularis, Verschaltung der thalamischen Kerne untereinander und ihre efferenten Projektionen zum Telencephalon. Für Abkürzungen siehe Liste.

4.2.2.2. Efferente Projektionen der thalamischen Kerne

Bei den Tracingstudien wurde eine Reihe von efferenten Projektionen der thalamischen Kerne gefunden, die eine Rolle bei der Regulierung des akustisch gesteuerten Verhaltens der Anuren spielen könnten. So wiesen die thalamischen Kerne Projektionen zu prämotorischen Zentren und sensomotorischen Interfacestrukturen auf². Außerdem wurden mit Efferenzen zur präoptischen Region und zum ventralen Hypothalamus Projektionen zu endokrinen Regulationszentren³ beobachtet, über die der Thalamus Einfluss auf die Hormonproduktion nehmen könnte. Über descendierende Projektionen zu vorgeschalteten Hörbahnstationen könnten die thalamischen Kerne außerdem ihre eigenen auditorischen Eingänge modulieren.

² Um eine bessere Lesbarkeit zu ermöglichen, werden im Zusammenhang mit der motorischen Steuerung folgende Kerngebieten mit dem Begriff prämotorische Zentren und sensomotorische Interfacestrukturen bezeichnet: Area praeoptica anterior, posteriorer Thalamus, ventromedialer Thalamus, praetectales Grau, Tegmentum, Torus semicircularis, Tectum opticum, Nucleus visceralis secundarius, Nucleus praetrigeminalis, Formatio reticularis. Es muss jedoch beachtet werden, dass nicht alle diese Kerngebiete direkte Projektionen zu den Motorkernen aufweisen. Dennoch können sie über descendierende Projektionen einen direkten oder indirekten Einfluss auf den motorischen Output ausüben (vgl. 1.2.).

³ Die Funktionen der Area praeoptica anterior und des ventralen Hypothalamus bei der endokrinen Regulation und ihre Bedeutung für das akustisch gesteuerte Verhalten der Anuren ist in der Einleitung erläutert. Im Folgenden werden diese beiden Kerngebiete als endokrine Regulationszentren bezeichnet. Dabei muss beachtet werden, dass die Area praeoptica anterior auch eine Rolle bei der Steuerung der Vokalisation spielt (vgl. 1.2.).

Sowohl der ventromediale als auch der posteriore Thalamus zeigten nur schwache Projektionen zu endokrinen Regulationszentren. Sie waren jedoch von den untersuchten thalamischen Kernen am stärksten mit zahlreichen prämotorischen Zentren und sensomotorischen Interfacestrukturen verbunden (Abb. 52, Abb. 53). Neben Projektionen zu Kerngebieten, die eine Rolle bei der Vokalisation und bei der Lokomotion spielen (vgl. 1.2.), wiesen der ventromediale und der posteriore Thalamus Efferenzen zum Praetectum und zum Tectum opticum auf. Es ist bekannt, dass das Tectum und das Praetectum der Amphibien eine Schlüsselrolle bei der Kontrolle von visuell gesteuerten Bewegungen spielen, etwa beim Beutefangverhalten oder bei Vermeidungsreaktionen (Ewert 1970, 1987). Aber auch andere, multisensorische Eingänge könnten eine Rolle bei tectal gesteuerten Orientierungsbewegungen spielen, wie es bei Säugern nachgewiesen wurde (Meredith & Stein 1985; Meredith et al. 1992).

Über efferente Projektionen zum Torus semicircularis, zum Nucleus lemnisci lateralis und zur Oliva superior könnten der ventromediale und posteriore Thalamus ihren eigenen auditorischen Eingang entsprechend der Verhaltensrelevanz eines akustischen Signals modulieren. Endepols und Walkowiak (2001) wiesen nach, dass während einer elektrischen Stimulation des Thalamus einzelne Neuronen des Torus semicircularis ihr Antwortverhalten auf eine Stimulation des N. VIII tatsächlich verändern. Da der Torus semicircularis ein audiomotorisches Interface darstellt (Walkowiak & Luksch 1994; Luksch & Walkowiak 1998), könnten die deszendierenden Projektionen der thalamischen Kerne zu diesem Kerngebiet auch in die Modulation audiomotorischer Integrationsprozesse involviert sein.

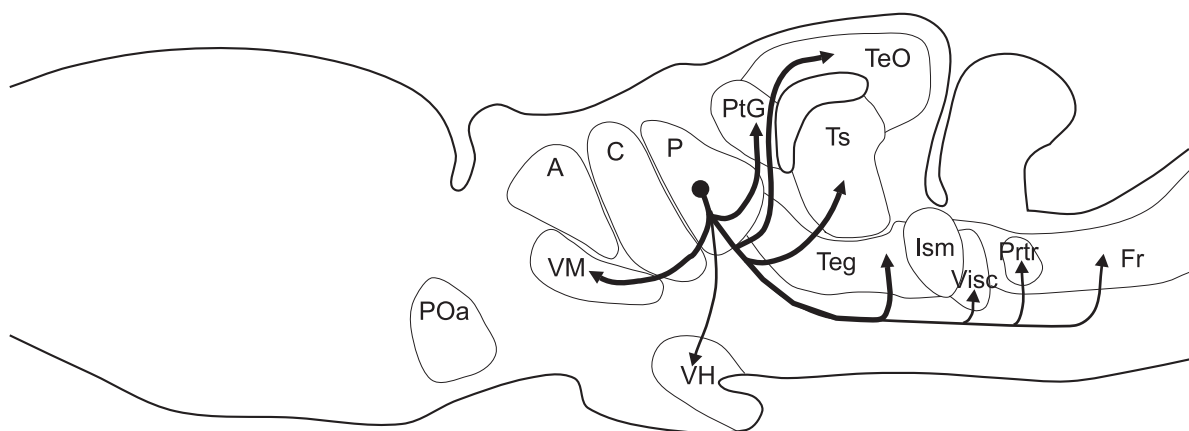


Abb. 52: Efferente Projektionen des posterioren Thalamus zu prämotorischen Zentren, sensomotorischen Interfacestrukturen und zum ventralen Hypothalamus. Für Abkürzungen siehe Liste.

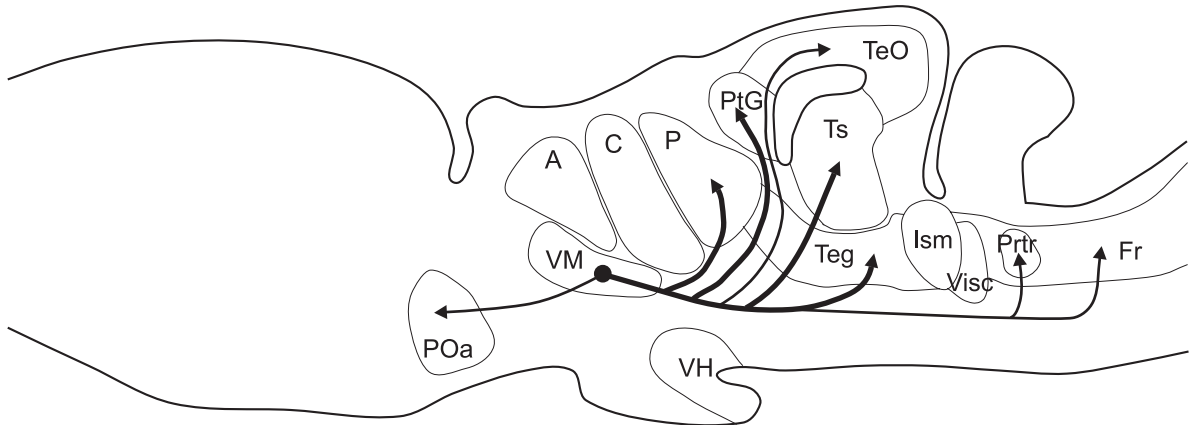


Abb. 53: Efferente Projektionen des ventromedialen Thalamus zu prämotorischen Zentren, sensomotorischen Interfacestrukturen und zur Area praeoptica anterior. Für Abkürzungen siehe Liste.

Im Vergleich zum ventromedialen und posterioren Thalamus wiesen der centrale und der anteriore Thalamus schwächere Projektionen zu sensomotorischen und prämotorischen Kerngebieten auf. Insbesondere der centrale Thalamus war jedoch eng mit endokrinen Regulationszentren verbunden (Abb. 54, Abb. 55). Über descendierende Projektionen zu vorgeschalteten Hörbahnstationen im Torus und in der Medulla oblongata könnten auch der centrale und der anteriore Thalamus ihre jeweiligen auditorischen Eingänge modulieren.

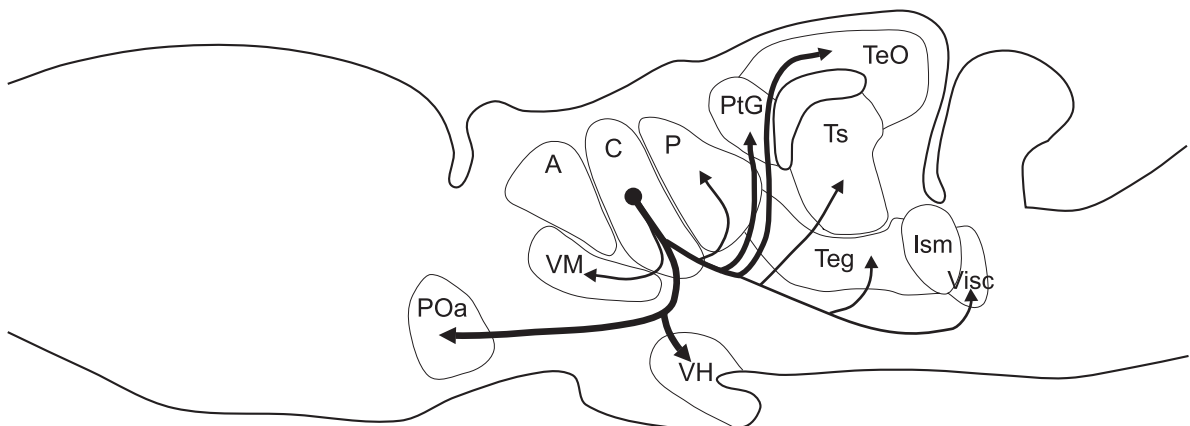


Abb. 54: Efferente Projektionen des centralen Thalamus zu prämotorischen Zentren, sensomotorischen Interfacestrukturen und endokrinen Regulationszentren. Für Abkürzungen siehe Liste.

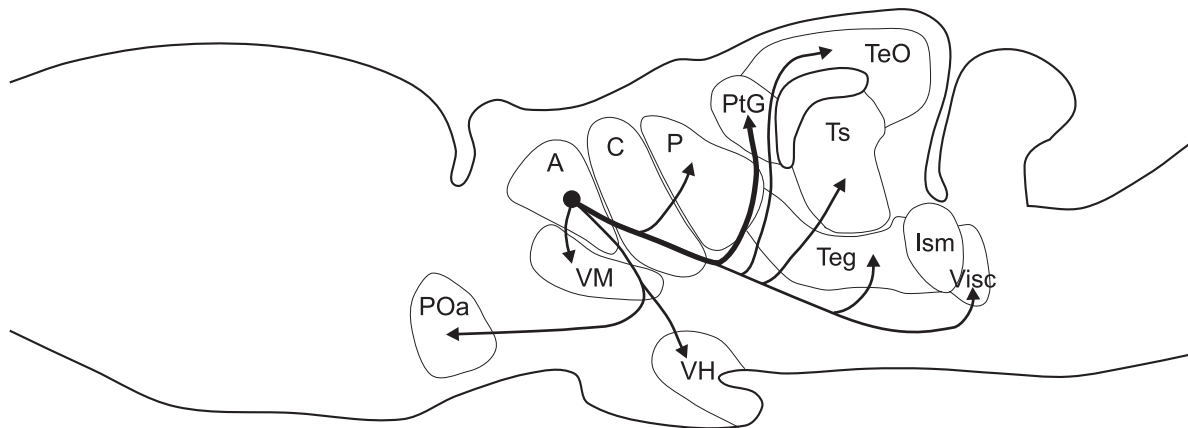


Abb. 55: Efferente Projektionen des anterioren Thalamus zu prämotorischen Zentren, sensomotorischen Interfacestrukturen und endokrinen Regulationszentren. Für Abkürzungen siehe Liste.

Nach HRP-Applikationen in den posterioren und centralen Thalamus wurden ebenfalls deszendierende Projektionen zu verschiedenen prämotorischen Zentren und vorgeschalteten Hörbahnstationen beobachtet (Hall & Feng 1987). Die vorliegenden Studien mit dem sensitiveren Tracer Neurobiotin (vgl. 4.2.2.1.) ergänzen diese Befunde. Allison und Wilczynski (1991) fanden nach HRP-Applikationen in der Area praeoptica anterior lediglich Hinweise auf Eingänge aus dem anterioren Thalamus. Bei den vorliegenden Untersuchungen wurden zusätzlich Projektionen aus dem ventromedialen und centralen Thalamus belegt. Letztere wurden auch von Hall und Feng (1987) und Neary (1988) beschrieben. Die vorliegenden Befunde, nach denen der centrale Thalamus stärkere Projektionen zum ventralen Hypothalamus aufweist als der anteriore Thalamus, stehen in guter Übereinstimmung mit Befunden von Allison und Wilczynski (1991).

4.3. Die Basalganglien

Das Striatum wird bei den Amnioten zu den Basalganglien gezählt. Diese sind hauptsächlich im Zusammenhang der Bewegungskontrolle bekannt und spielen z.B. eine entscheidende Rolle bei der Planung, Initiierung und Ausführung von Bewegungen. Die Beteiligung der Basalganglien an motorischen Prozessen stand lange im Mittelpunkt des Forschungsinteresses, da beim Menschen Defekte dieser Strukturen zu Krankheitsbildern wie Morbus Parkinson und Morbus Huntington führen, bei denen es zu motorischen Störungen wie unfreiwilligen Bewegungen oder Bewegungsarmut kommt (DeLong et al. 1986; Albin et al. 1989; Alexander &

Crutcher 1990). Inzwischen ist bekannt, dass die Basalganglien der Säuger zusätzlich eine Reihe von nicht-motorischen Funktionen ausüben, etwa im Zusammenhang mit motivationsgesteuertem Verhalten, bei kognitiven Prozessen, bei der Aufmerksamkeitssteuerung und bei sensomotorischen Integrationsprozessen (McDonald & White 1993; Redgrave et al. 1999; Knowlton et al. 1996; Schultz et al. 1997).

Der Terminus Basalganglien wird in der Literatur unterschiedlich verwendet. Im engeren Sinne bezeichnet er verschiedene striatale und pallidale Kerne des basalen Telencephalon, die als striatopallidales System zusammengefasst werden. Forschungsergebnisse der letzten zwanzig Jahre haben gezeigt, dass die Basalganglien aller Amnioten große strukturelle, elektrophysiologische und pharmakologische Ähnlichkeiten aufweisen (zur Übersicht siehe Medina & Reiner 1995; Reiner et al. 1998). Neuere Tracingstudien und immunohistochemische Untersuchungen lassen vermuten, dass auch das Striatum der Anuren in Subareale untergliedert werden kann, die mit dem striatopallidalen System der Amnioten homologisiert werden können (zur Übersicht siehe Medina & Reiner 1995; Reiner et al. 1998; Marín et al. 1998b, c; Smeets et al. 2000). Anuren könnten somit einen geeigneten Modellorganismus darstellen, um die unterschiedlichen Funktionen der Basalganglien bei Wirbeltieren zu untersuchen, beispielsweise im Zusammenhang mit der sensomotorischen Integration. Dabei weisen sie gegenüber höher entwickelten Wirbeltieren eine Reihe von experimentellen Vorteilen auf (vgl. 1.1.).

Im Folgenden wird diskutiert, inwieweit die vorliegenden elektrophysiologischen und anatomischen Befunde Hinweise auf die Verarbeitung auditorischer und visueller Informationen im Striatum der Anuren geben und ob dieses Kerngebiet als striatopallidales System verstanden werden kann. Auf die Rolle der Basalganglien bei der sensomotorischen Integration wird in Kap. 4.5. eingegangen.

4.3.1. Anatomische Befunde

4.3.1.1. Das striatopallidale System der Anuren

Um grundlegende Mechanismen der sensomotorischen Integration bei Vertebraten an Anuren zu untersuchen, muss klargestellt werden, inwieweit die beteiligten neuronalen Strukturen homologisiert werden können. Die vorliegenden anatomischen Untersuchungen erlaubten einen Vergleich der Basalganglien der Amnioten mit denen der Anuren unter hodologischen Gesichtspunkten.

Stark vereinfacht umfassen die Basalganglien bei allen Amnioten ein dorsales und ein ventrales striatopallidales System. Das dorsale striatopallidale System wird in Zusammenhang mit sensomotorischen Funktionen gebracht und besteht aus einem dorsalen Striatum (auch einfach als Striatum bezeichnet) und einem dorsalen Pallidum (wird bei Säugern in ein externes und ein internes Segment untergliedert). Dem ventralen striatopallidalen System werden hingegen limbische Funktionen zugesprochen. Es setzt sich aus einem ventralen Striatum (Nucleus accumbens und Teile des olfaktorischen Tuberculum) und einem ventralen Pallidum zusammen (Medina & Reiner 1995; Smeets et al. 2000). Häufig werden auch andere Kerngebiete, die funktionell eng mit dem striatopallidalen System verbunden sind, zu den Basalganglien gerechnet. Dazu gehört bei Säugern beispielsweise der Nucleus subthalamicus und die Substantia nigra. Das Striatum stellt die Eingangsstruktur der Basalganglien dar und erhält bei Säugern glutamaterge Eingänge aus verschiedenen Bereichen des gesamten Cortex und aus dem dorsalen Thalamus. Die Hauptausgangsstrukturen des dorsalen striatopallidalen Systems sind der Globus pallidus internus (bei Nicht-Primaten = Nucleus entopeduncularis) und die Substantia nigra, pars reticulata. Beide Kerne weisen GABAerge Projektionen zu verschiedenen Kernen des Thalamus auf. Diese projizieren wiederum über glutamaterge Efferenzen u. a. zum prämotorischen und motorischen Areal des Cortex. Auf diesem Weg können die Basalganglien die corticale Bewegungskontrolle beeinflussen (Albin et al. 1989; Alexander & Crutcher 1990; Gerfen 1992). Zwischen den Eingangs- und Ausgangsstrukturen der Basalganglien gibt es nach einem in den achtziger Jahren entwickelten Modell zwei Hauptprojektionswege (Penney & Young 1983; Albin et al. 1989; DeLong 1990; Alexander & Crutcher 1990). Über den direkten Weg projizieren GABAerge striatale Projektionsneuronen unmittelbar zum Globus pallidus internus und zur Substantia nigra, pars reticulata. Der indirekte Weg führt über den Globus pallidus externus (bei Nicht-Primaten = Globus pallidus) zum Nucleus subthalamicus und von dort zu den Ausgangsstrukturen. Beide Wege haben, aufgrund unterschiedlicher erregender und hemmender Komponenten, einen entgegengesetzten Einfluss auf den Globus pallidus internus und die Substantia nigra, pars reticulata und somit auf den motorischen Output. Der direkte Weg führt dabei letztlich zu einer Erleichterung von Bewegungen, der indirekte Weg zu einer Unterdrückung (Reiner 1994; Inase et al. 1997). Bei Reptilien und Vögeln wurden ebenfalls Eingangs- und Ausgangsstrukturen der Basalganglien gefunden, deren Projektionsmuster sich weitgehend mit denjenigen der Säuger vergleichen lassen. Dabei wird das dorsale Pallidum jedoch nicht in ein externes und internes Segment untergliedert (Russchen et al. 1987; Medina & Reiner 1995, 1997).

Anhand der hier vorliegenden Tracingstudien wurde untersucht, ob das Striatum der Anuren (Northcutt & Kicliter 1980) ebenfalls in Subareale untergliedert werden kann, die aufgrund ihrer Projektionsmuster mit den Eingangs- und Ausgangsstrukturen des dorsalen striatopallidalen Systems der Amnioten vergleichbar sind. Bezüglich der Efferenzen zum Thalamus und zur Area praeoptica anterior zeigte sich, dass die striatalen Projektionsneuronen heterogen verteilt waren. Sie lagen jeweils im caudalen und - zu einem geringeren Anteil - im intermediären Bereich des Striatum. Die Afferenzen aus dem centralen Thalamus durchzogen das Striatum zwar über die gesamte rostrocaudale Ausdehnung des Kerngebietes. Synaptische Kontakte im caudalen und intermediären Striatum können ohne elektronenmikroskopische Untersuchungen nicht ausgeschlossen werden. Dennoch legen die Befunde aus zwei Gründen nahe, dass das rostrale Striatum die stärksten thalamischen Eingänge erhält. Erstens ziehen die Axone im rostralen Striatum verstärkt zu den Somata und proximalen Dendriten der Neuronen. Dort haben synaptische Eingänge einen stärkeren Effekt auf die neuronale Erregbarkeit als an den distalen Dendriten im caudalen und intermediären Striatum (Nieuwenhuys 1998). Zweitens war die Anzahl retrograd markierter Neuronen im centralen Thalamus bei Tracerapplikationen im rostralen und caudalen Striatum sehr ähnlich. Dies zeigt, dass die meisten thalamischen Projektionen das rostrale Striatum erreichen. Bei Einzelzellanfärbungen im centralen Thalamus wurde ebenfalls gezeigt, dass die Axone von visuell erregbaren Neuronen bis zum rostralen Bereich des Striatum ziehen (Roth et al. im Druck). Das Striatum der Anuren zeigt also bezüglich seiner Ein- und Ausgänge einen heterogenen Aufbau. Dabei stellt der rostrale Bereich die Haupteingangsstruktur dar und kann somit mit dem dorsalen Striatum der Amnioten verglichen werden. Der caudale Bereich ist hingegen die Hauptausgangsstruktur und somit mit dem dorsalen Pallidum der Amnioten vergleichbar. Der intermediäre Bereich kann als ein Übergangsbereich zwischen diesen beiden Strukturen angesehen werden.

Die lokalen Tracerapplikationen innerhalb des Striatum bestätigten ebenfalls die Existenz eines dorsalen striatopallidalen Systems bei Anuren. Die Tatsache, dass jeweils unmittelbar rostral der Applikationsstellen mehr Somata markiert waren als im vergleichbaren caudalen Bereich, zeigt, dass die Axone striataler Neuronen hauptsächlich nach caudal ziehen. Es konnten jedoch auch schwache Projektionen vom caudalen zum rostralen Striatum nachgewiesen werden, welche mit pallido-striatalen Projektionen bei Säugern (Staines & Fibinger 1984) vergleichbar sind.

Wie bereits dargestellt, projiziert das Striatum bei Säugern über den direkten Weg ohne zwischengeschaltete Kerngebiete zum Pallidum und zur Substantia nigra, pars reticulata. Eine der Substantia nigra, pars reticulata vergleichbare Region wurde bei Anuren im Tegmentum lokalisiert (Marín et al. 1997a). Entsprechend striato-pallidaler und striato-nigraler Projektionen müsste bei Anuren das rostrale Striatum Efferenzen zum intermediären und caudalen Striatum und zum Tegmentum aufweisen. Diese Projektionsmuster konnten in den vorliegenden Tracingstudien tatsächlich nachgewiesen werden und bestätigen somit ein rostral gelegenes Striatum bei Anuren. Bei Säugern existieren Projektionen von den Ausgangsstrukturen der Basalganglien zum Colliculus superior, diese Projektionen haben eine Funktion bei der Steuerung der Augenbewegungen (Faull & Mehler 1978; Redgrave et al. 1992). In den vorliegenden Tracingstudien wurden ebenfalls Projektionen aus dem caudalen Striatum zum Tectum opticum beobachtet. Eine dem Nucleus subthalamicus vergleichbare Struktur, die entsprechend dem indirekten Projektionsweg der Säuger Eingänge aus dem Globus pallidus externus erhalten müsste und selbst zu den Ausgangsstrukturen der Basalganglien projiziert, ist bei Anuren bisher nicht lokalisiert wurden. Da die Komponenten der Basalganglien jedoch allgemein große Übereinstimmungen zwischen Anuren und Amnioten zeigen, existiert dieses Kerngebiet vermutlich auch bei Amphibien.

Andere Tracingstudien und immunohistochemische Studien geben ebenfalls Hinweise auf die Existenz eines striatopallidalen Systems bei Amphibien (beispielsweise Inagaki et al. 1981; Reiner & Northcutt 1987; Marín et al. 1997 b, c; Marín et al. 1998d). Angaben zur Lage des Pallidum bei Anuren sind in der Literatur jedoch widersprüchlich (für einen Überblick siehe Endepols et al. eingereicht [b]). Die hier vorliegenden Tracingstudien zeigen, dass sich das dorsale striatopallidale System der Anuren nach caudal bis zur rostralen Grenze des Nucleus entopeduncularis anterior erstreckt. Damit konnte bestätigt werden, dass der caudale Bereich des Striatum nach der Nomenklatur von Northcutt und Kicliter (1980) tatsächlich ein Teil der Basalganglien der Anuren ist. Die aktuell von Marín et al. (1998d) vorgeschlagene Nomenklatur des Telencephalon, die auf immunohistochemischen Untersuchungen beruht, wird durch die vorliegenden hodologischen Befunde nicht eindeutig gestützt. Nach den Autoren stellt der Nucleus entopeduncularis anterior einen Teil des Pallidum der Anuren dar. Bei den hier durchgeführten Tracingstudien im Thalamus wurden in diesem Kerngebiet zwar einzelne Projektionsneuronen markiert, jedoch in weit geringerem Ausmaß als im caudalen Bereich des Striatum. Die vorliegenden Befunde stellen daher in Frage, ob

der Nucleus entopeduncularis anterior zu den Hauptausgangsstrukturen der Basalganglien der Anuren gehört.

In Abb. 56 sind zusammenfassend die Verbindungen der Basalganglien von Säugern und Anuren gegenübergestellt. Aus der Abbildung wird ersichtlich, dass die Verbindungen der Basalganglien viele Übereinstimmungen zeigen. Ein wesentlicher Unterschied besteht darin, dass bei Säugern der Cortex sehr stark in die Weiterleitung spezifischer sensorischer Informationen vom Thalamus zu den Basalganglien involviert ist. Direkte thalamische Eingänge aus dem Mittellinien- und Intralaminarkomplex vermitteln hingegen multimodale (unspezifische) Informationen zum Striatum (Groenewegen & Berendse 1994). Im Gegensatz dazu werden bei Anuren spezifische sensorische Informationen direkt aus dem dorsalen Thalamus zum Striatum weitergeleitet⁴ (vgl. 4.3.1.2.), ohne dass das Pallium involviert ist⁵. Bei Säugern spielt der Cortex außerdem eine entscheidende Rolle bei der motorischen Kontrolle. So weisen die Basalganglien der Säuger selbst keine bedeutenden deszendierenden Projektionen zum Hirnstamm auf (Percheron et al. 1994). Vielmehr verläuft der Hauptprojektionsweg über verschiedene thalamische Kerne zurück zum prämotorischen und motorischen Cortex. Dieser steuert über weitreichende deszendierende Projektionen den motorischen Output (Turner & DeLong 2000). Bei Anuren weist das Pallium hingegen keine bedeutenden deszendierenden Projektionen zu prämotorischen Zentren auf (vorliegende Tracingstudien; Neary 1990; Northcutt & Ronan 1992). Vielmehr stellen die Basalganglien die wichtigste Ausgangsstruktur des Telencephalon dar. Sie haben selbst einen direkten Zugang zu prämotorischen Zentren bzw. steuern diese über das Tectum opticum oder den Thalamus an (vgl. 4.3.1.3.). Ein Vergleich der Verbindungen der Basalganglien innerhalb der Tetrapoden zeigt, dass im Verlauf der Evolution eine zunehmende Involvierung des Cortex bei den Ein- und Ausgängen der Basalganglien

⁴ Aktuelle Untersuchungen von Roth et al. (im Druck) zum visuellen System stellen allerdings in Frage, dass der dorsale Thalamus der Amphibien tatsächlich an der Weiterleitung spezifischer sensorischer Informationen beteiligt ist. Die Autoren vermuten vielmehr, dass die dorsalen Thalamuskern mit den Mittellinien- und Intralaminarkernen der Säuger mit limbischen, assoziativen und exekutiven Funktionen homologisiert werden können und dass zusätzlich oder alternativ multimodale sensorische Eingänge in diesen Kernen konvergieren.

⁵ Der Isocortex der Säuger stellt ein palliales Derivat dar. Es werden allerdings in der Literatur unterschiedliche Hypothesen zur Homologisierung verschiedener Cortexareale der Säuger mit dem Pallium der Amphibien vertreten (für einen Überblick siehe Ten Donkelaar 1998b). Direkte Projektionen des Pallium mediale zum Striatum wurden zwar in der vorliegenden Arbeit und von Marin et al (1997b) nachgewiesen, sie sind jedoch nur sehr schwach.

stattgefunden hat. Dadurch wurde komplexeres und variables Verhalten ermöglicht (zur Übersicht siehe Medina & Reiner 1995; Reiner et al. 1998; Marín et al. 1998b, c; Smeets et al. 2000). Der vorliegende hodologische Vergleich zeigt, dass Anuren dennoch einen geeigneten Modellorganismus für Untersuchungen zur Funktion der Basalganglien bei Wirbeltieren darstellen könnten. Dabei könnten grundlegende Verarbeitungsprozesse in den Basalganglien der Wirbeltiere ohne corticale Einflüsse untersucht werden.

Immunohistochemische Untersuchungen an *Xenopus laevis*, *Bombina orientalis* und *Discoglossus pictus* unterstützen die hier dargestellten hodologischen Befunde und belegen, dass das dorsale striatopallidale System der Anuren auch bezüglich der Verteilung von Neuromodulatoren den Basalganglien der Amnioten ähnelt (Endepols et al. eingereicht [b]). Diese immunohistochemischen Befunde stehen auch in Übereinstimmung mit der hier vorgeschlagenen Begrenzung der Basalganglien. Im Folgenden wird auf die Unterscheidung eines rostral gelegenen Striatum und eines caudal gelegenen Pallidum nur eingegangen, wenn die vorliegenden Befunde dies sinnvoll erscheinen lassen. Da sich ältere Literaturangaben in der Regel auf die Nomenklatur von Northcutt und Kicliter (1980) beziehen, wird in den übrigen Fällen weiterhin vom Striatum gesprochen.

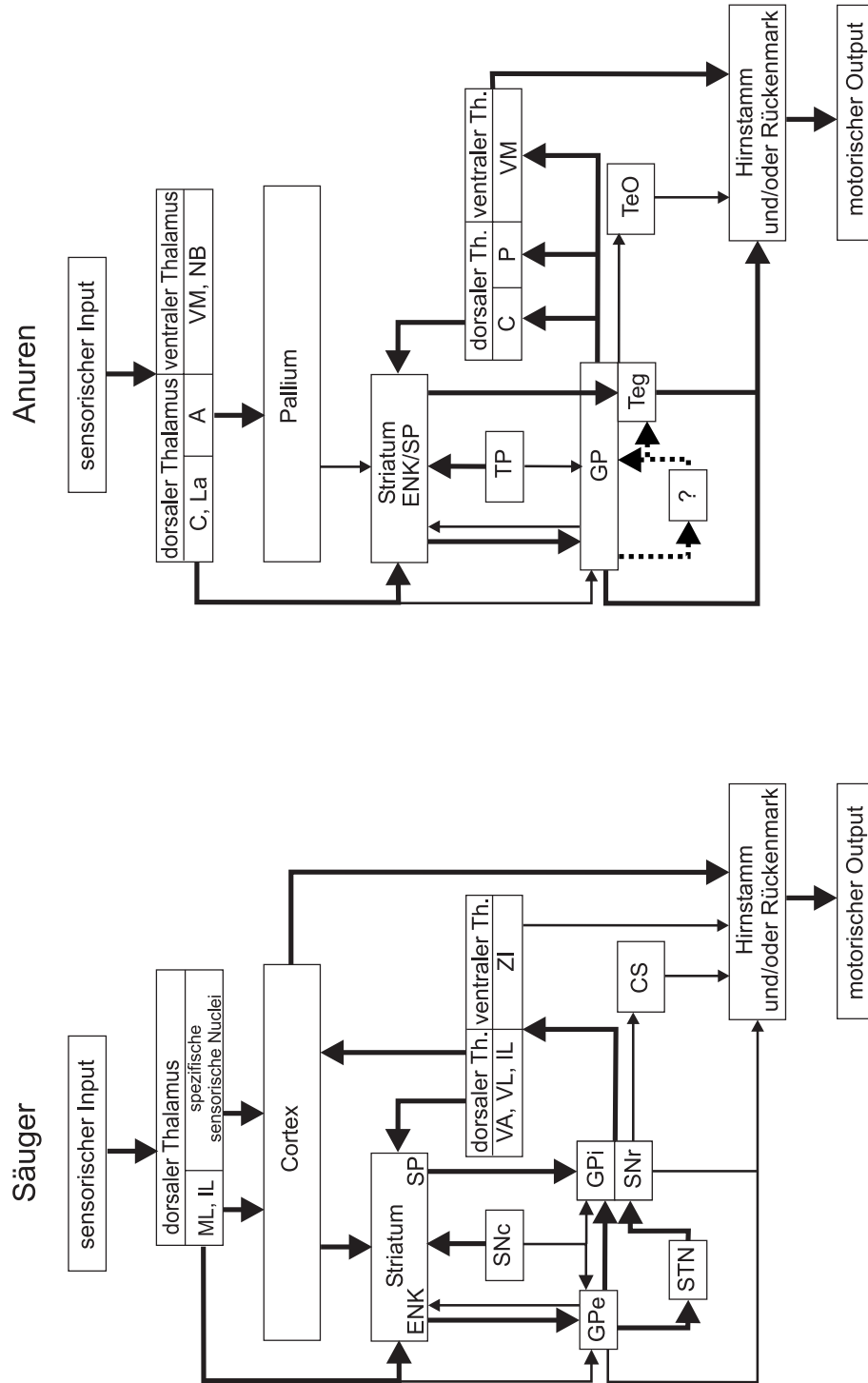


Abb. 56: Schematische Darstellung der Verbindungen der Basalganglien bei Säugern und Anuren. Die Strichdicke spiegelt die Stärke der Verbindungen wider, gestrichelte Linien stellen bisher nicht bekannte Verbindungen dar. Für weitere Erläuterungen siehe Text. A=anteriöer Thalamus, C=centraler Thalamus, CS=Colliculus superior, ENK=Enkephalin, GP=Globus pallidus, GPe=Globus pallidus externus, GPI=Globus pallidus internus, IL=Intralaminarkomplex, La=anterior lateraler Thalamus, ML=Mittellinienkomplex, NB=Nucleus Bellonci, P=Nucleus subthalamicus, SNc=Substantia nigra pars compacta, SNr=Substantia nigra pars reticulata, SP=Substantia nigra pars posterior, STN=Subthalamic nucleus, TeO=Tectum opticum, TP=posteriore Tuberculum, VA=Nucleus ventralis anterior, VL=Nucleus ventralis lateralis, VM=ventromedialer Thalamus, ZI=Zona incerta.

4.3.1.2. Auditorische Eingänge des Striatum

Die Tracingstudien zeigten, dass das Striatum afferente Projektionen aus di- und mesencephalen Kerngebieten erhält, die an der Verarbeitung auditorischer Informationen beteiligt sind. So wurden sehr starke Afferenzen aus dem centralen Thalamus und schwache Afferenzen aus dem Nucleus laminaris des Torus semicircularis beobachtet. Außerdem wurden Hinweise auf schwache Afferenzen aus dem ventromedialen Thalamus gefunden (Abb. 57).

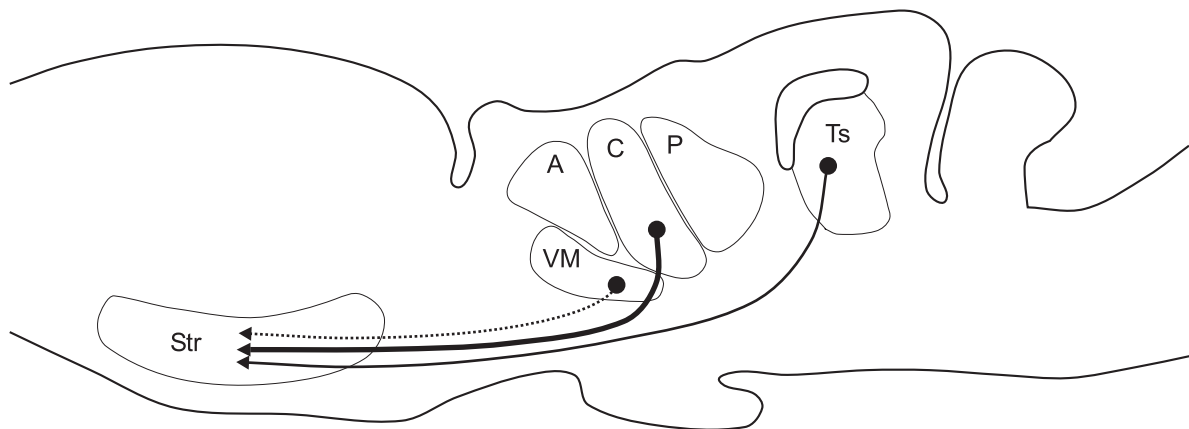


Abb. 57: Afferente Eingänge des Striatum aus dem Thalamus und dem Torus semicircularis. Die gestrichelte Linie zeigt eine Projektion, die nicht eindeutig belegt wurde, für Erläuterungen siehe Text. Für Abkürzungen siehe Liste.

Starke Projektionen des centralen Thalamus zum Striatum stehen in Übereinstimmung mit Tracingstudien und Einzelzellanfärbungen in der Literatur (Kicliter & Northcutt 1975; Kicliter 1979; Hall & Feng 1987; Wilczynski & Northcutt 1983a; Marín et al. 1997b; Roth et al. im Druck). Auch schwache Afferenzen aus dem Nucleus laminaris des Torus semicircularis wurden von anderen Autoren beobachtet (Marín et al. 1997b; Endepols & Walkowiak 2001). Die Befunde zu striatalen Eingängen aus dem ventralen Thalamus waren bei den hier durchgeführten Tracingstudien widersprüchlich. Keine der Applikationen im Striatum führte zu retrograd markierten Neuronen in Kerngebieten des ventralen Thalamus. Marín et al. (1997b) fanden jedoch bei Tracerapplikationen im Striatum von *Xenopus laevis* und *Rana perezi* einzelne retrograd markierte Neuronen im ventromedialen und im ventrolateralen Thalamus, die auf Eingänge aus diesen Kernen schließen lassen. Dieser Befund steht in Übereinstimmung mit den hier vorliegenden Tracingstudien im ventromedialen Thalamus, bei denen nach einigen großflächigen

Applikationen axonale Terminalien im caudalen Striatum beobachtet wurden. Obwohl hier keine eindeutige Aussage über Projektionen des ventromedialen Thalamus zum Striatum gemacht werden kann, werden sie durch die Befunde der oben genannten Studien nahe gelegt. Ob über diese Projektionen auditorische Informationen zum Striatum weitergeleitet werden, ist bisher unbekannt.

4.3.1.3. Efferente Verbindungen des Striatum

Das Striatum zeichnete sich durch eine große Anzahl efferenter Projektionen aus. Über reziproke Verschaltungen mit dem Torus semicircularis und dem Thalamus könnte das Striatum seinen eigenen auditorischen Eingang modulieren. Endepols und Walkowiak (2001) konnten bei Intrazellulärableitungen an *Discoglossus pictus* und *Bombina orientalis* zeigen, dass die Antworteigenschaften von auditorischen Neuronen des Torus semicircularis durch eine elektrische Stimulation des Striatum tatsächlich reversibel verändert werden. Efferente Projektionen des Striatum zum Thalamus und zum Torus semicircularis wurden auch von Wilczynski und Northcutt (1983b) und Marín et al. (1997c) beobachtet.

Das Striatum steuerte verschiedene Kerngebiete an, die an der Steuerung der Vokalisation und Lokomotion beteiligt sind (vgl. 1.2.). Außerdem zogen Projektionen zum Praetectum und zum Tectum opticum (Abb. 58). Über diesen Weg könnte das Striatum visuomotorischen Prozesse und allgemeine Orientierungsantworten steuern (Marín et al. 1997d, 1998a). Zusätzlich zogen striatale Axone über den in der vorliegenden Arbeit untersuchten Bereich hinaus bis in das Rückenmark, wo sie möglicherweise direkt spinale Motorkerne innervierten. Weitreichende deszendierende striatale Projektionen wurden auch von anderen Autoren bei *Rana* und *Xenopus* beobachtet (Wilczynski & Northcutt 1983b; Marín et al. 1997c). Diese Ergebnisse stehen insgesamt in guter Übereinstimmung mit den hier vorliegenden Befunden.

Bei den hier durchgeführten Tracings wurden striatale Projektionen zum Hypothalamus und zur präoptischen Region beobachtet (Abb. 58). Projektionen zum Hypothalamus wurden von Wilczynski und Northcutt (1983b) nach HRP-Applikationen im Striatum nicht beschrieben. Marín et al. (1997c) beobachteten jedoch mit neueren Tracingmethoden ebenfalls schwache Projektionen des Striatum zum ventralen Hypothalamus. Auch bei Tracingstudien im rostralen Bereich des ventralen Hypothalamus konnten Afferenzen aus dem Striatum nachgewiesen werden (Allison & Wilczynski 1991). In der vorliegenden Arbeit terminierten im

Bereich der Area praeoptica markierte Axone in der Nähe der Somata. Außerdem durchzogen sie das lateral angrenzende Neuropil, in das die Dendriten der präoptischen Neuronen hineinreichen. Die Kontrollapplikationen in der Area praeoptica anterior bestätigten anhand retrograd markierter Somata im Striatum, dass diese Axone zumindest teilweise von striatalen Neuronen stammten. Sie zeigten außerdem, dass sich einzelne Dendriten der Area praeoptica anterior bis zum lateralen Vorderhirnbündel erstrecken. Über synaptische Kontakte könnten auch auf diesem Weg Informationen aus dem Striatum Neuronen der Area praeoptica anterior erreichen. Striatale Projektionen zu diesem Kerngebiet könnten daher stärker sein als bisher angenommen. Direkte Projektionen des Striatum zur Area praeoptica anterior konnten von anderen Autoren bisher nicht nachgewiesen werden. Allison und Wilczynski (1991) und Marín et al (1997c) beobachteten nach Tracerapplikationen in die Area praeoptica anterior keine retrograd markierten Somata im Striatum.

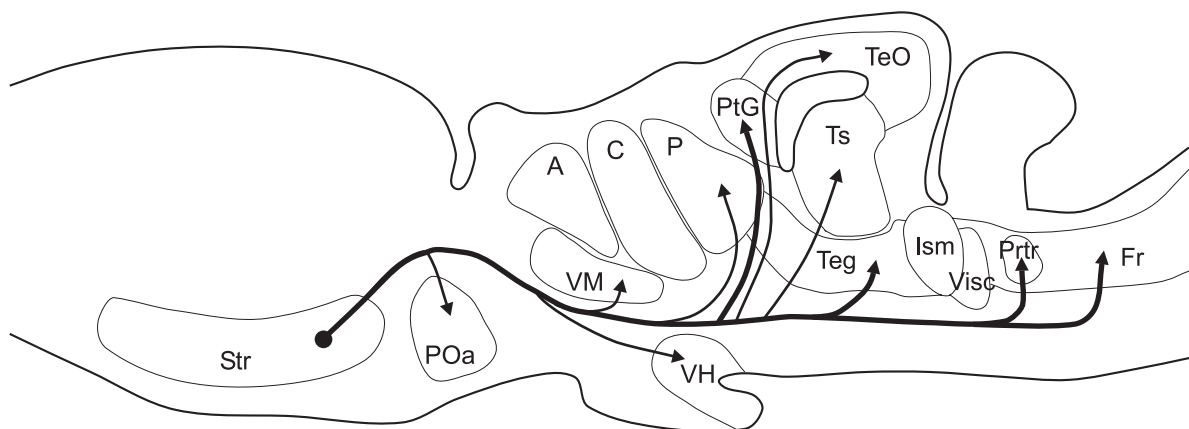


Abb. 58: Efferente Projektionen der Basalganglien zu prämotorischen Zentren, sensomotorischen Interfacestrukturen und endokrinen Regulationszentren. Für Abkürzungen siehe Liste.

4.3.1.4. Einzelzellanfärbungen

Einzelzellanfärbungen im Striatum von Anuren sind in der Literatur bisher nicht beschrieben. Prinzipiell bieten sie die Möglichkeit, sehr viel präzisere Aussagen über die Verbindungen eines Kerngebietes zu machen, als dies mit Hilfe von Tracingstudien möglich ist. So kann beispielsweise nur anhand von Einzelzellanfärbungen untersucht werden, ob sich Subpopulationen der Neuronen

eines Kerngebietes bezüglich ihrer Terminationsgebiete unterscheiden und ob es innerhalb eines Kerngebietes Interneuronen gibt.

In der vorliegenden Arbeit war eine Rekonstruktion der vollständigen axonalen Projektionen nur bei zwei Neuronen erfolgreich, so dass keine Klassifizierung der striatalen Neuronen vorgenommen werden konnte. Dennoch erlauben diese Einzelzellanfärbungen zwei wichtige Aussagen: Erstens konnte durch die Kopplung von elektrophysiologischen und neuroanatomischen Studien gezeigt werden, dass auditorisch und visuell getriebene Neuronen des Striatum direkte Projektionen zu prämotorischen Zentren aufweisen. Damit wurde im Striatum von Anuren erstmals nachgewiesen, dass sensomotorische Integrationsprozesse auf der zellulären Ebene stattfinden können. Zweitens zeigten die Studien, dass striatale Neuronen der Anuren sehr weitreichende axonale Projektionen aufweisen und gleichzeitig mehrere Terminationsgebiete im Gehirn innervieren. Durch die stark divergenten Projektionen striataler Neuronen könnten mehrere prämotorische Zentren gleichzeitig angesteuert und auf diese Weise eine koordinierte Bewegungssteuerung ermöglicht werden.

Komplexe Projektionsmuster einzelner Neuronen könnten ein generelles Merkmal bei Anuren sein. So wurden sie bei mehreren Anurenarten in verschiedenen Hirngebieten beschrieben, etwa im Torus semicircularis von *Discoglossus pictus* und *Bombina orientalis* (Walkowiak & Luksch 1994; Luksch 1994; Luksch & Walkowiak 1998, Endepols & Walkowiak 2001), in verschiedenen septalen Kernen von *Bombina orientalis* (Klein 2000) und im Pallium mediale von *Bombina orientalis* und *Discoglossus pictus* (Roth & Westhoff 1999; Klein 2000; Westhoff 2000; Westhoff & Roth 2002). Neuronen des Pallium mediale innervierten beispielsweise im Durchschnitt 10 verschiedene Hirnareale, einzelne Neuronen sogar bis zu 25 Areale gleichzeitig. Dies bedeutet, dass schon die Projektionen weniger Neuronen die gesamten Zielgebiete des Pallium mediale erfassen könnten (Westhoff 2000). Die sehr weitreichenden und stark verzweigten axonalen Projektionen der hier untersuchten Zellen lassen eine ähnliche Organisation striataler Neuronen vermuten. Möglicherweise handelt es sich bei der komplexen Organisation der axonalen Projektionen einzelner Neuronen von Anuren um einen Kompensationsmechanismus, mit dem die im Vergleich zu anderen Wirbeltieren geringe Anzahl von Neuronen ausgeglichen wird.

4.3.2. Physiologische Befunde

4.3.2.1. Habituationseffekte

Im Striatum von *Hyla versicolor* und *Bombina orientalis* wurden bei den Extrazellulärableitungen starke Habituationseffekte beobachtet. Dabei traten Habituationseffekte bei Interstimulusintervallen von unter 90 s (N. VIII) und 30 s (N. II) auf. Eine Habituation im Striatum von Anuren wurde auch bei *in vivo*-Untersuchungen festgestellt. Birkhofer et al. (1994) registrierten bei Extrazellulärableitungen an *Xenopus laevis* Habituationseffekte nach auditorischer, visueller und mechanosensorischer Stimulation, wenn das Interstimulusintervall 10 s unterschritt. Gruberg und Ambros (1974) beschreiben bei Extrazellulärableitungen im Striatum von *Rana pipiens* eine starke Habituation während visueller Stimulation. Buxbaum-Conradi und Ewert (1999) beobachteten bei Single Unit-Ableitungen im Striatum von *Bufo marinus* bei 6 % der Neuronen Habituationseffekte während der Präsentation visueller Reize; weitere 19 % der Neuronen habituierten so schnell, dass ihre Antworten auf visuelle Stimuli überhaupt nicht getestet werden konnten.

Die hier beobachtete sehr starke Habituation nach einer Stimulation des N. VIII ist bisher nicht in der Literatur beschrieben. Sie steht jedoch in Übereinstimmung mit der generellen Zunahme von Habituationseffekten in der aufsteigenden Hörbahn (vgl. 4.2.1.2.). Unterschiede in der Stärke der Habituation im Striatum könnten wie im Thalamus artspezifisch sein. Auch die Art des Stimulus könnte Auswirkungen auf die Habituation haben. Ein Einfluss der *in vitro*-Präparation ist hingegen unwahrscheinlich, da die hier beobachteten Habituationseffekte im Thalamus in guter Übereinstimmung mit *in vivo*-Untersuchungen standen. Die mögliche Bedeutung der Habituation im Vorderhirn der Anuren wurde bereits im Zusammenhang mit dem Thalamus diskutiert (vgl. 4.2.1.2.).

4.3.2.2. Extrazellulärableitungen

Bei Extrazellulärableitungen im Striatum wurden in der vorliegenden Arbeit nach einer Stimulation des N. VIII und des N. II EPs mit einer negativen Auslenkung registriert. In Übereinstimmung mit diesen Befunden registrierten Mudry und Capranica (1980) und Birkhofer et al. (1994) bei *in vivo*-Untersuchungen im Striatum von *Rana catesbeiana* und *Xenopus laevis* negative EPs nach akustischer bzw. optischer Stimulation. Angaben zu Latenzen der EPs fehlen bei Mudry und Capranica (1980). Bei Birkhofer et al. (1994) wurden nach akustischer Stimulation im Striatum Latenzen zwischen 30 und 60 ms gemessen, die gut mit den vorliegenden

Mittelwerten übereinstimmen (37,6 ms bei *Hyla versicolor* und 35,7 ms bei *Bombina orientalis*). Mit 100 - 110 ms waren bei Birkhofer et al. (1994) die Latenzen nach visueller Stimulation jedoch wesentlich länger als die hier beschriebenen Latenzen (37,7 ms bei *Bombina orientalis*). Bei einem Vergleich der Befunde muss berücksichtigt werden, dass im vorliegenden *in vitro*-Ganzhirnpräparat die peripheren Strukturen der Hör- und der Sehbahn fehlen. Im Innenohr beträgt die Latenz zwischen einem akustischen Stimulus und den Aktionspotentialen innerhalb des Hörnerven nur ca. 2,5 ms und ist auf eine Synapse zwischen den Haarzellen im Innenohr und den Fasern des N. VIII sowie auf den Widerstand der Nervenfasern zurückzuführen (Hillery & Narins 1984; Ronken 1990). In der Retina findet hingegen bereits eine weitgehende Verarbeitung visueller Informationen auf mehreren, hintereinander geschalteten neuronalen Ebenen statt (für einen Überblick siehe Ten Donkelaar 1998a). Dies erklärt die wesentlich kürzeren Latenzen nach Stimulation des N. II im vorliegenden Ganzhirnpräparat verglichen mit den Latenzen nach einem optischen Stimulus im intakten Tier. Angaben zur Dauer der EPs fehlen bei Mudry und Capranica (1980) sowie bei Birkhofer et al. (1994), so dass ein Literaturvergleich nicht möglich ist.

Bei *Hyla versicolor* wurde festgestellt, dass im Striatum nach einem einfachen elektrischen Stimulus am N. VIII keine EPs zu registrieren waren. Eine Stimulation mit komplexeren Reizen führte hingegen zu einer extrazellulär detektierbaren Reaktion striataler Neuronen. Mudry und Capranica (1980) registrierten *in vivo* EPs im Striatum und im Pallium mediale ebenfalls nur nach komplexen akustischen Stimuli, während einfache Klicks nicht zu einer Reaktion der Neuronen führten. Im Thalamus konnten hingegen, wie in der vorliegenden Arbeit, auch mit Hilfe einfacher akustischer Stimuli EPs ausgelöst werden (Mudry et al. 1977). Diese Beobachtung lässt sich im Zusammenhang mit zahlreichen neurophysiologischen Untersuchungen erklären, nach denen in der aufsteigenden Hörbahn der Anuren die Antworteigenschaften einzelner Neuronen bezüglich unterschiedlicher Parameter akustischer Signale zunehmend selektiver werden. Dabei spielt die Erkennung von spezifischen Parametern der art eigenen Rufe, wie beispielsweise der spektralen Zusammensetzung oder der Pulswiederholungsrate, eine besondere Rolle (Feng & Capranica 1976, 1978; Walkowiak 1980, 1984; Hermes et al. 1982; Fuzessery & Feng 1983; Rose & Capranica 1985; Epping & Eggermont 1986; Hall & Feng 1986, 1987, 1988; Fuzessery 1988). Der Paarungsruf von *Hyla versicolor* hat bei 20 °C eine Pulswiederholungsrate von circa 20 Hz (Gerhardt & Huber 2002; Bush et al. 2002). Die maximale Amplitude der EPs im

Striatum wurde jedoch bei einer Pulswiederholungsrate von 40 Hz gemessen. Diese Pulswiederholungsrate entspricht ungefähr derjenigen des Paarungsrufes der mit *Hyla versicolor* eng verwandten Art *Hyla chrysoscelis* (Gerhardt & Huber 2002; Bush et al. 2002). Beide Arten sind äußerlich kaum zu unterscheiden und die Verbreitungsgebiete überlappen sich sehr stark (vgl. 2.1.). Da es sich bei den verwendeten Versuchstieren um Freilandfänge handelte, kann nicht ausgeschlossen werden, dass zum Teil Individuen von *Hyla chrysoscelis* verwendet wurden. Berücksichtigt werden muss aber insbesondere, dass ein Vergleich der *in vitro* verwendeten elektrischen Stimuli mit der Situation *in vivo* nur eingeschränkt möglich ist (vgl. 4.1.1.). Dies gilt auch für die Untersuchungen an *Bombina orientalis*, bei denen auch bei einem einfachen Stimulus EPs im Striatum registriert wurden. Möglicherweise reagierte *Bombina orientalis* aber auch deshalb auf einfache Stimuli, weil diese Art, anders als *Hyla versicolor* und *Rana catesbeiana*, kurze sinusartige Rufe verwendet (Akef & Schneider 1985). Die Vorderhirnstrukturen dieser Art könnten somit eine andere Selektivität bezüglich temporaler Parameter akustischer Stimuli aufweisen.

Bei einem Vergleich der EPs nach alternierender Stimulation des N. VIII und des N. II zeigte sich, dass die Amplitude bei letzterem Stimulus wesentlich höher war. Dies deutet darauf hin, dass eine größere Anzahl von striatalen Neuronen auf visuelle Reize reagierte. Dieser Befund wurde durch die Intrazellulärableitungen bestätigt und wird in diesem Zusammenhang diskutiert (vgl. 4.3.2.3.).

4.3.2.3. Intrazellulärableitungen

Intrazellulärableitungen nach akustischer Stimulation sind im Striatum von Anuren bislang nicht durchgeführt worden, so dass kein Literaturvergleich bezüglich der Latenzen möglich ist. Die hier gemessenen Latenzzeiten im Striatum erlauben Rückschlüsse auf die zentrale Verarbeitung auditorischer Informationen. So weist die relativ große Streuung der Latenzzeiten einzelner Neuronen zwischen 34 und 118 ms darauf hin, dass dieses Kerngebiet polysynaptische auditorische Eingänge erhält. Die anatomischen Befunde der Tracingstudien belegen die Existenz paralleler Eingänge des Striatum aus unterschiedlichen Stationen der Hörbahn. So erhält es beispielsweise wenige direkte Afferenzen aus dem Torus semicircularis, während der Hauptanteil auditorischen Informationen über die Zwischenstation des centralen Thalamus weitergeleitet wird. Die dem Thalamus und Torus semicircularis vorgeschalteten Hörbahnstationen weisen selbst einen hohen Grad an Parallelverarbeitung auf (vgl. 1.2.).

Bezüglich der Gesamtdauer der Antworten einzelner Neuronen zeigte sich bei früheren Intrazellulärableitungen im *in vitro*-Ganzhirnpräparat eine Zunahme in der aufsteigenden Hörbahn (Walkowiak & Luksch 1994; Luksch & Walkowiak 1998; Endepols & Walkowiak 1999, 2001). Im Vergleich mit diesen Werten wurde bei den vorliegenden Intrazellulärableitungen mit einem Mittelwert der Gesamtdauer von 533,2 ms der höchste Wert bestimmt. Die beobachtete Zunahme der Gesamtdauer intrazellulärer Antworten könnte damit zusammenhängen, dass die Neuronen höherer Stationen der Hörbahn einer Vielzahl von modulierenden Einflüssen ausgesetzt sind. Außerdem könnte auch die Zunahme paralleler Eingänge aus mehreren Stationen der Hörbahn für eine längere Gesamtdauer der Intrazellulärantworten verantwortlich sein.

In der vorliegenden Arbeit wurde bei einer Reihe von Intrazellulärableitungen neben dem N. VIII auch der N. II stimuliert. Anhand dieser Experimente sollte untersucht werden, ob im Striatum visuelle und auditorische Informationen auf zellulärer Ebene getrennt oder zusammen verarbeitet werden. Eine detaillierte Untersuchung der Verarbeitung visueller Informationen im Striatum war hingegen nicht das Ziel der vorliegenden Arbeit. Aus diesem Grund wird hier auf die Sehbahn der Anuren nicht im Detail eingegangen (für einen Überblick siehe Ten Donkelaar 1998a). Die große Streuung der Latenzzeiten lässt ebenfalls auf eine Parallelverarbeitung visueller Informationen in der zentralen Sehbahn schließen und steht damit in Übereinstimmung mit Befunden aus der Literatur.

Ein Vergleich der vorgefundenen Reaktionen striataler Neuronen zeigte, dass wesentlich mehr Neuronen auf eine Stimulation des N. II reagierten (83 %) als auf eine Stimulation des N. VIII (30 %). Bei Single Unit-Ableitungen im Striatum von *Bufo marinus* reagierten 76 % aller untersuchten Neuronen auf optische Reize (Buxbaum-Conradi & Ewert 1999). Der verhältnismäßig hohe Anteil visuell getriebener Neuronen im Striatum könnte ein Hinweis auf die besondere Bedeutung der visuomotorischen Integration in diesem Kerngebiet sein. Die visuomotorische Integration ist bei Anuren u. a. entscheidend für Verhaltensweisen, die das tägliche Überleben sichern. So müssen die Tiere beispielsweise beim Beutefang sehr schnell und präzise mit motorischen Aktionen auf optische Reize reagieren. Durch Läsionsexperimente konnte ein Verlust der visuellen Orientierung beim Beutefang nachgewiesen werden (Ewert 1967, 1984; Patton & Grobstein 1998a, b). Auch für die Feinderkennung und das Fluchtverhalten sind schnelle visuomotorische Reaktionen wichtig. Audiomotorische Integrationsprozesse spielen hingegen eine besonders große Rolle im Zusammenhang mit dem Reproduktionsverhalten der

Anuren, welches nur saisonal auftritt. Möglicherweise wird die Sensitivität der auditorisch erregbaren Neuronen im Striatum oder in vorgeschalteten Stationen der Hörbahn in Abhängigkeit von der Jahreszeit reguliert. Dabei könnte der Hormonstatus der Individuen eine wichtige Rolle spielen. Im Mesencephalon von Anuren wurde eine Beeinflussung der auditorischer Informationsverarbeitung durch Hormone nachgewiesen (Yovanof & Feng 1983). Im Torus semicircularis wurde außerdem eine saisonal schwankende Anzahl auditorisch stimulierbarer Neuronen beobachtet (Walkowiak 1980). Der Hormonstatus der Individuen wurde bei den vorliegenden Untersuchungen nicht berücksichtigt und könnte für den vergleichsweise geringen Anteil von auditorisch erregbarer Neuronen im Striatum verantwortlich sein. Möglicherweise reagierten auch nicht alle auditorisch erregbaren Neuronen des Striatum auf den einfachen Stimulus, da vermutlich gerade Neuronen von Vorderhirnzentren sehr speziell auf bestimmte Parameter akustischer Reize reagieren (vgl. 4.3.2.2.). Es muss außerdem berücksichtigt werden, dass möglicherweise einige auditorisch erregbare Neuronen im Striatum nicht für Intrazellulärableitungen geeignet waren und daher nicht erfasst wurden.

In den Fällen, in denen der N. VIII und der N. II alternierend stimuliert wurden, reagierten 34 % der Neuronen auf beide Stimuli. Es gibt im Striatum der Anuren also Einzelneuronen, die parallel mindestens zwei unterschiedliche sensorische Eingänge erhalten. Da die Verarbeitung anderer sensorischer Informationen nicht untersucht wurde, konnte hier nicht bestimmt werden, wie hoch der Anteil multimodaler Neuronen im Striatum ist. Multisensorische Integration auf der neuronalen Ebene könnte einen generellen Mechanismus darstellen, durch den ein Organismus komplexe Stimuli, die ihn aus der Umwelt erreichen, integriert und in angemessenes Verhalten umsetzt. Bei Säugern wurde diesbezüglich eine große Anzahl von Experimenten im Colliculus superior durchgeführt. Dort konnte gezeigt werden, dass Einzelneuronen auditorische, visuelle und somatosensorische Informationen integrieren. Dabei reagierten die Neuronen während multisensorischer Stimulation häufig nichtlinear, indem beispielsweise in einigen Fällen eine stärkere Antwort ausgelöst wurde, als sie sich aus der Summe der Antworten auf Einzelreize ergeben hätte (Meredith & Stein 1986; Stein et al. 2002). Die multisensorische Integration in Neuronen des Colliculus superior spiegelte sich auf der Verhaltensebene wider (Stein et al. 1988; Stein 1998). Ähnliche Integrationsprozesse könnten auch im Striatum der Anuren eine Rolle spielen. Birkhofer et al. (1994) fanden bei Extrazellulärableitungen Hinweise auf multisensorische Interaktionen im Striatum. Die hier durchgeführten Intrazellulärableitungen lassen vermuten, dass die

multisensorische Integration im Striatum der Anuren auf der Einzelzellebene stattfinden könnte. Bei zukünftigen Intrazellulärableitungen wäre es daher interessant, neben einer alternierenden auch eine gleichzeitige Stimulation sensorischer Nerven vorzunehmen.

Bei den hier durchgeführten Intrazellulärableitungen wurde eine Reihe von unterschiedlichen Antworttypen nach Stimulation der beiden sensorischen Nerven beobachtet. Der häufigste Antworttyp war bei beiden Stimuli eine Inhibition, außerdem kamen Antworten mit kombinierten exzitatorischen und inhibitorischen Anteilen vor. Bei Intrazellulärableitungen im Striatum von *Bufo spinosus* fanden Matsumoto et al. (1991) nach einer elektrischen Stimulation des lateralen Vorderhirnbündels ebenfalls unterschiedliche Antworttypen, die zum Teil mit den hier gefundenen übereinstimmten. Bei diesen Untersuchungen trat als häufigster Antworttyp eine Exzitation gefolgt von einer Inhibition auf (43 %), während eine reine Inhibition nur bei 23 % der striatalen Neuronen registriert wurde. Ein Vergleich dieser Resultate mit den vorliegenden Befunden erscheint aufgrund der unterschiedlichen Reizsituation jedoch wenig sinnvoll. Es muss aber auch beachtet werden, dass bei den Extrazellulärableitungen in der vorliegenden Arbeit eine sehr starke Habituation der striatalen Neuronen festgestellt wurde (vgl. 4.3.2.1.). Bei dem während der Intrazellulärableitungen verwendeten Interstimulusintervall von 20 oder 30 s wurden daher möglicherweise nicht alle Antworttypen erfasst.

Eine getrennte Analyse der exzitatorischen und inhibitorischen Anteile der intrazellulären Antworten im Striatum zeigte, dass die EPSPs signifikant kürzere Latenzen und Dauern aufwiesen als die IPSPs. Bezogen auf die Neuronenpopulation bedeutet dies, dass es nach einer einfachen Stimulation des contralateralen N. VIII zu einer kurzen Exzitation gefolgt von einer langandauernden Inhibition kommt. Die Neurotransmitter, die von den Neuronen vorgeschalteter Hörbahnstationen an den synaptischen Verbindungen mit striatalen Neuronen ausgeschüttet werden, sind bei Anuren bisher nicht untersucht worden. Von Säugern sind jedoch exzitatorische, glutamaterge Eingänge des Striatum aus dem Cortex und dem Thalamus bekannt. Striatale Neuronen hingegen sind GABAerg und haben einen inhibitorischen Einfluss auf ihre Zielstrukturen. Unmittelbar nachgeschaltete Neuronen des Pallidum werden folglich inhibiert (Graybiel 1990). Die Neuronen, in denen hier Intrazellulärableitungen durchgeführt wurden, sind entsprechend ihrer caudalen Lage im Kerngebiet größtenteils dem Pallidum zuzuordnen (vgl. 4.3.1.1.). Im Hinblick auf die Verhältnisse bei Säugern könnte die schnelle Exzitation auf glutamaterge Eingänge aus dem Thalamus zurückzuführen sein. Die später eintretende und länger andauernde

Inhibition könnte durch GABAerge Eingänge aus den weiter rostral gelegenen Neuronen des Striatum verursacht werden. Die inhibitorische Übertragung ist an eine hohe Spontanaktivität der Zielneuronen im Pallidum gebunden, wie sie in der vorliegenden Arbeit auch beobachtet wurde. Die bei einigen Neuronen beobachteten Rebound-Spikes im Anschluss an eine Inhibition sind nicht auf synaptische Eingänge zurückzuführen, sondern auf intrinsische Eigenschaften der entsprechenden Neuronen (Pape 1996; Sekirnjak & du Lac 2002).

Über die Weiterleitung von Informationen an nachgeschaltete Kerngebiete kann ebenfalls nur spekuliert werden, da bei Anuren nicht gesichert ist, welche Neurotransmitter von den pallidalen Neuronen ausgeschüttet werden. Bei Säugern sind die Ausgangsstrukturen der Basalganglien GABAerg (Graybiel 1990). Unter der Annahme, dass dies auch bei Anuren der Fall ist, würden die spontanaktiven Neuronen des Pallidum nachgeschaltete Neuronen kontinuierlich inhibieren. Ihre eigene Inhibition durch striatale Neuronen hätte eine Disinhibition in den Zielstrukturen zur Folge. Eine Erregung pallidaler Neuronen würde hingegen zu einer verstärkten Inhibition in den nachgeschalteten Kerngebieten führen.

4.4. Das limbische System

Das limbische System stellt eines der wichtigsten Koordinationssysteme des Gehirns dar und wird in Zusammenhang gebracht mit Motivation, Gedächtnis, bestimmten Lernprozessen, Emotionen, Sexualverhalten und zahlreichen integrativen Funktionen, die notwendig sind für angemessenes Verhalten als Antwort auf sensorische Stimuli (Butler & Hodos 1996). Das limbische System der Anuren weist ähnliche Komponenten auf wie das der Amnioten und umfasst Bereiche des Pallium, die septale Region, die Amygdala, die präoptische Region, die Habenula, den Hypothalamus, das Griseum centrale, den Nucleus interpeduncularis und den Nucleus raphes (Northcutt 1995; Bruce & Neary 1995). Roth et al. (im Druck) vermuten aufgrund aktueller neurophysiologischer und anatomischer Untersuchungen, dass auch der anteriore Thalamus zum limbischen System der Anuren zählt.

Die septale Region der Anuren nimmt den ventromedialen Bereich der telencephalen Hemisphären ein und gliedert sich nach Northcutt und Kicliter (1980) in sechs Kerngebiete. Dazu zählen auch das Septum mediale, das Septum laterale und der Nucleus des Diagonalen Bandes von Broca, deren Verbindungen hier untersucht wurden. Im Folgenden wird die Bezeichnung „septale Kerne“ nur für diese drei

Kerngebiete verwendet. Über die Verbindungen der septalen Kerne der Anuren ist nur wenig bekannt, da bisher keine direkten Tracingstudien in diesen Kerngebieten durchgeführt wurden. Zu den Funktionen des Septum der Anuren gibt es ebenfalls nur wenige Untersuchungen. Eine wichtige Rolle des Septum beim Rufverhalten der Männchen und bei der Phonotaxis der Weibchen konnte durch Läsionsstudien nachgewiesen werden (Walkowiak et al. 1999, vgl. 1.1.). Intrazellulärableitungen im Telencephalon von *Bombina orientalis* zeigten, dass die Spontanaktivität einzelner Neuronen der septalen Kerne durch eine Stimulation des N. VIII beeinflusst wird (Klein 2000). Diskutiert werden im Folgenden diejenigen Verbindungen der septalen Kerne, die eine Rolle bei der Verarbeitung auditorischer Informationen spielen könnten. Die Bedeutung des limbischen Systems im Rahmen der audiomotorischen Integration bei Anuren wird in Kap. 4.5. diskutiert.

4.4.1. Anatomische Befunde

4.4.1.1. Auditorische Eingänge der septalen Kerne

Bisher wurden keine gezielten Untersuchungen zu den Verbindungen der septalen Kerne der Anuren durchgeführt. Es war daher unklar, über welche Wege auditorische Informationen die septale Region erreichen. Eine Möglichkeit wären Eingänge aus dem Pallium mediale, welches selbst an der Verarbeitung auditorischer Informationen beteiligt ist (vgl. 1.2.). Die vorliegenden Tracingstudien zeigten, dass das Pallium mediale Efferenzen zu allen drei untersuchten septalen Kernen aufweist. In Übereinstimmung mit den vorliegenden Befunden wurden in der Literatur bei Tracingstudien im Pallium mediale ebenfalls Projektionen zu den septalen Kernen beobachtet (Halpern 1972; Ronan & Northcutt 1979; Neary 1990; Northcutt & Ronan 1992).

Die vorliegenden Tracingstudien zeigten außerdem, dass einige der untersuchten thalamischen Kerne direkt zu den septalen Kernen projizieren. Auditorische Informationen könnten also auch auf diesem Weg zum Septum gelangen. Das Septum laterale erhielt schwache bilaterale Eingänge aus dem anterioren Thalamus und dem caudalen Bereich des ventromedialen Thalamus. Bei Applikationen im centralen Thalamus wurden ebenfalls axonale Terminalien im Septum laterale beobachtet. Obwohl bei den hier durchgeführten Kontrollen im Septum laterale keine retrograd markierten Neuronen im centralen Thalamus gefunden wurden, legt ein Literaturvergleich die Existenz von Eingängen aus diesem Kerngebiet zum Septum

laterale nahe. So beobachteten Roth et al. (im Druck) nach Einzelzellanfärbungen und Neary (1990) nach einer extrazellulären Tracerapplikation im centralen Thalamus axonale Terminalien im ipsilateralen Septum laterale. Bilaterale Projektionen des anterioren Thalamus zum Septum laterale wurden von diesen Autoren ebenfalls bestätigt. Bei den vorliegenden Tracingstudien wurden keine retrograd markierten Neuronen in weiter caudal gelegenen Hörbahnstationen beobachtet. Endepols und Walkowiak (2001) fanden jedoch im Nucleus laminaris des Torus semicircularis einzelne Neuronen, deren Axone im Septum laterale terminierten. Das Terminationsgebiet lag allerdings sehr weit caudal in einem Bereich, in welchem hier keine Tracingstudien durchgeführt wurden.

Das Septum mediale erhielt bei den durchgeführten Tracingstudien ebenfalls Eingänge aus dem anterioren Thalamus. Die reziproken Kontrollen zeigten jedoch widersprüchliche Befunde bezüglich der Stärke dieser Projektionen. So waren bei Tracerapplikationen im Septum mediale zahlreiche Neuronen des anterioren Thalamus retrograd markiert, was auf einen starken Eingang aus diesem Kerngebiet schließen lässt. Bei Applikationen im anterioren Thalamus wurden hingegen nur wenige axonale Terminalien im Septum mediale gefunden. Bei der Interpretation dieser widersprüchlichen Befunde muss beachtet werden, dass Projektionsfasern des medialen Vorderhirnbündels durch das Septum mediale zum Pallium mediale ziehen. Bei Tracerapplikationen im Septum mediale konnten diese Fibers of Passage den Marker aufnehmen. Dadurch wurden auch solche Neuronen retrograd markiert, die nicht im Septum mediale sondern im Pallium mediale terminieren. Da starke Projektionen des anterioren Thalamus zum Pallium mediale nachgewiesen wurden, muss aus der Kombination der durchgeführten Tracingstudien auf eine eher schwache bilaterale Projektion des anterioren Thalamus zum Septum mediale geschlossen werden. Bei einer Tracerapplikation im anterioren Thalamus fand Neary (1990) ebenfalls nur sehr wenige axonale Terminalien im Septum mediale. In der vorliegenden Arbeit wurden zusätzlich Eingänge des Septum mediale aus dem centralen und ventromedialen Thalamus belegt, wobei die Projektionsneuronen jeweils im äußersten caudalen Bereich der beiden thalamischen Kerngebiete lagen. Die Verteilung dieser Projektionsneuronen lässt auf Subareale des centralen und ventromedialen Thalamus bezüglich der Verbindungen mit dem Septum mediale schließen. Tracerapplikationen im centralen Thalamus (Neary 1990) bestätigten die hier beschriebenen schwachen Projektionen zum Septum mediale.

Bei den vorliegenden Tracingstudien im anterioren, centralen und ventromedialen Thalamus wurden auch im Nucleus des Diagonalen Bandes von Broca axonale

Terminalien markiert. Allerdings wurden keine Kontrollapplikationen im Nucleus des Diagonalen Bandes von Broca durchgeführt (vgl. 3.2.4.). Diese Befunde können daher nur als Hinweis auf Eingänge aus dem Thalamus verstanden werden. Eindeutige Belege könnten Einzelzellanfärbungen in den thalamischen Kerngebieten liefern. Roth et al. (im Druck) konnte anhand solcher Anfärbungen bereits zeigen, dass Axone von Neuronen des centralen und des anterioren Thalamus tatsächlich Kollateralen im Bereich des Nucleus des Diagonalen Bandes von Broca aufweisen.

Bei Intrazellulärableitungen im *in vitro*-Ganzhirnpräparat von *Bombina orientalis* betrugen die Latenzen der meisten auditorisch erregbaren Neuronen im Septum über 100 ms. Die Latenzen von Neuronen des Pallium mediale lagen hingegen in den meisten Fällen darunter (Klein 2000). Dies lässt vermuten, dass auditorische Informationen die septalen Kerne hauptsächlich über das Pallium mediale erreichen. Bei einigen Intrazellulärableitungen im Septum wurden jedoch auch Latenzen von circa 30 ms registriert. Diese vergleichsweise kurzen Latenzen könnten auf die oben beschriebenen, direkten auditorischen Eingänge aus dem Thalamus zurückzuführen sein. Auch die schwachen Afferenzen aus dem Torus (Endepols & Walkowiak 2001) könnten diesbezüglich eine Rolle spielen. Abb. 59 gibt einen Überblick über die thalamischen Eingänge der septalen Kerne. Über welche Verbindungen tatsächlich auditorische Informationen vermittelt werden, ist noch unbekannt.

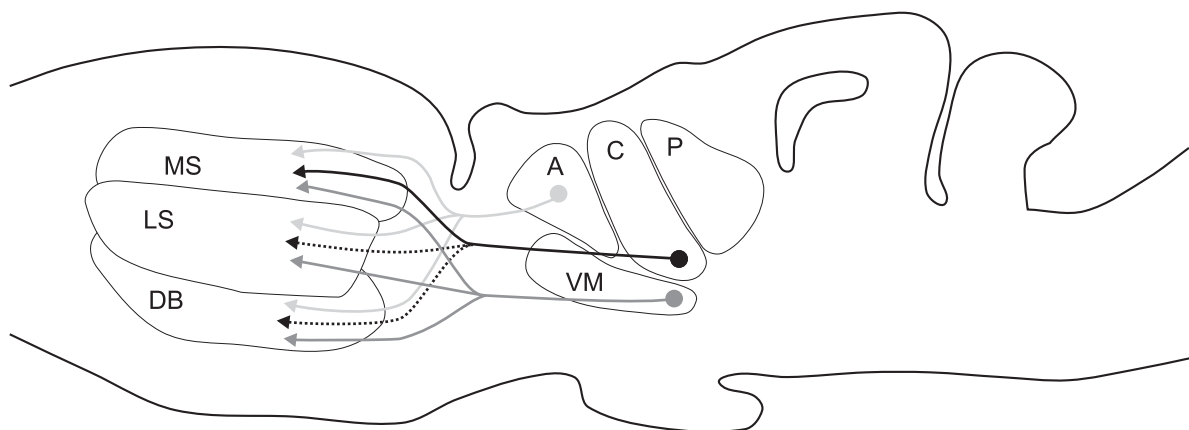


Abb. 59: Afferente Eingänge des Septum mediale, des Septum laterale und des Nucleus des Diagonalen Bandes von Broca aus verschiedenen thalamischen Kernen. Projektionen, die anhand der Tracingstudien nicht eindeutig belegt wurden, sind durch gestrichelte Linien dargestellt; für Erläuterungen siehe Text. Für Abkürzungen siehe Liste.

4.4.1.2. Efferente Projektionen der septalen Kerne

Die hier erstmals durchgeführten Tracingstudien im Septum laterale und im Septum mediale zeigten, dass beide Kerne starke efferente Projektionen zu endokrinen Regulationszentren aufweisen. Außerdem wurden Hinweise auf schwache Projektionen vom Nucleus des Diagonalen Bandes von Broca zur Area praeoptica anterior gefunden (Abb. 60). Allison und Wilczynski (1991) beobachteten ebenfalls Projektionen des Septum laterale und des Septum mediale zur Area praeoptica anterior, schwache Eingänge aus dem Nucleus des Diagonalen Bandes von Broca wurden hingegen nicht bestätigt. Nach HRP-Applikationen in den ventralen Hypothalamus fanden Allison und Wilczynski (1991) keine retrograd markierten Neuronen im Septum. Die Diskrepanz zu den vorliegenden Befunden könnte darauf zurückzuführen sein, dass die Autoren den Tracer im Bereich der Somata applizierten. Die vorliegenden Tracingstudien im Septum mediale und laterale zeigten jedoch, dass die Axone der septalen Neuronen hauptsächlich im lateralen Neuropil des ventralen Hypothalamus terminieren.

Direkte Projektionen zu audiomotorischen Interfacestrukturen zeigte in der vorliegenden Arbeit lediglich das Septum laterale. Es wies unterschiedlich starke Projektionen zu allen untersuchten thalamischen Kernen und zum Nucleus laminaris des Torus semicircularis auf (Abb. 60). Über diese Projektionen könnte das Septum laterale modulierend auf die audiomotorische Integration einwirken. Nach HRP-Applikationen in den centralen und posterioren Thalamus fanden Hall und Feng (1987) keine retrograd markierten Somata im Bereich des Septum. Vermutlich ist die Diskrepanz in den Befunden auf die hohe Sensitivität des Tracers Neurobiotin zurückzuführen (vgl. 4.2.2.1.).

Diejenigen Neuronen, deren Axone zum Thalamus zogen, waren nicht homogen im Septum laterale verteilt. Nach Applikationen in den anterioren und den ventromedialen Thalamus war ihre Anzahl im rostralen und intermediären Bereich des Septum laterale höher als im caudalen Bereich. Die heterogene Verteilung der Projektionsneuronen im Septum laterale wurde hier erstmals beobachtet und deutet auf funktionelle Subareale hin, die in zukünftigen Studien untersucht werden könnten. Die Tracingstudien zeigen außerdem, dass das Septum laterale eine wichtige Position innerhalb des limbischen Systems der Anuren einnimmt. Von den untersuchten septalen Kernen weist es die stärksten afferenten und efferenten Verbindungen mit dem Thalamus auf (vgl. auch 4.4.1.1.). Das Septum laterale könnte somit ein wichtiges Bindeglied zwischen den septalen Strukturen und dem Diencephalon darstellen.

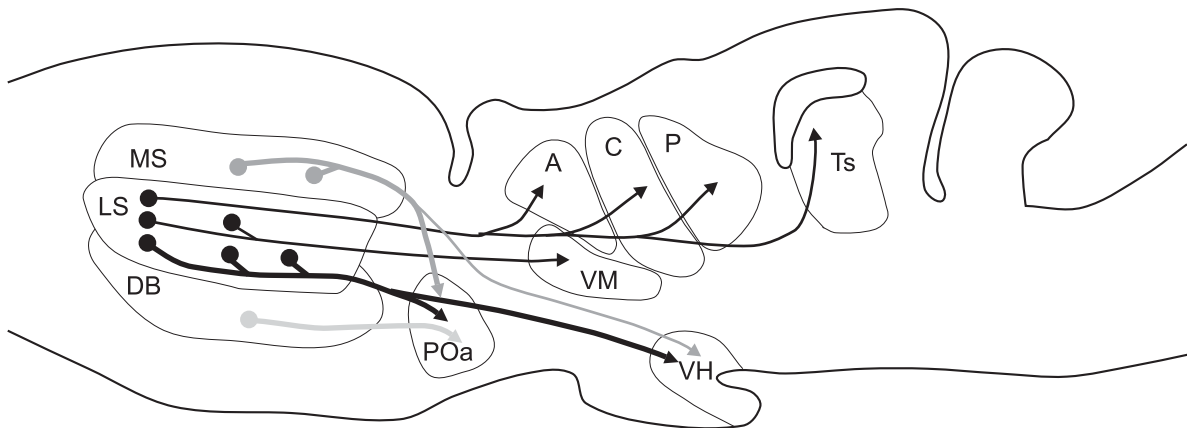


Abb. 60: Efferente Projektionen der septalen Kerne zum Thalamus, zum Torus semicircularis und zu endokrinen Regulationszentren. Für Abkürzungen siehe Liste.

4.5. Sensomotorische Integration im Vorderhirn der Anuren

Luksch (1994) und Walkowiak und Luksch (1994) stellten bei ihren Untersuchungen zur audiomotorischen Integration im Torus semicircularis eine Reihe von Eigenschaften heraus, die audiomotorische Interfacestrukturen auszeichnen. So müssen die beteiligten neuronalen Elemente die distributiv abgebildete Erregung aus den unterschiedlichen Stationen der Hörbahn integrieren können oder Projektionen zu einer integrierenden Station entsenden. Sie müssen multimodale Informationen integrativ verarbeiten oder Teil eines multimodalen Netzwerkes sein. Einzelne Elemente können sensitiv gegenüber langfristig oder kurzfristig wirksamen Modulatoren sein (Hormone oder Neuromodulatoren). Zur Ansteuerung der somatischen Muskulatur müssen die Integrationszentren über einen Zugang zu prämotorischen und/oder motorischen Zentren verfügen. Da verschiedene Verhaltensreaktionen autonome und endokrine Funktionen einschließen, müssen die Interfacestrukturen auch entsprechende Regulationszentren ansteuern können.

4.5.1. Sensomotorische Integration im Diencephalon

Im Diencephalon verfügten alle untersuchten thalamischen Kerne über die Eigenschaften audiomotorischer Interfacestrukturen. Die unterschiedliche Gewichtung der Efferenzen zu prämotorischen Zentren und sensomotorischen Interfacestrukturen bzw. zu endokrinen Regulationszentren lässt jedoch auf

unterschiedliche Funktionen der einzelnen Kerne bei der sensomotorischen Integration schließen.

Alle untersuchten Thalamuskern erhielten auditorische Afferenzen parallel aus mehreren vorgeschalteten Hörbahnstationen, in denen auditorische Informationen differentiell verarbeitet werden (vgl. 4.2.2.1.). Zusätzlich zeigten vorhergehende physiologische und anatomische Untersuchungen, dass sie an der Verarbeitung unterschiedlicher multisensorischer Informationen beteiligt sind (für einen Überblick siehe Ten Donkelaar 1998a). Außerdem erhielten die thalamischen Kerne Eingänge aus zahlreichen nicht-sensorischen Gebieten, über welche beispielsweise Informationen über den endogenen Zustand des Individuums vermittelt werden können. Der starke Besatz der Dendriten mit Spines, der bei vielen thalamischen Neuronen beobachtet wurde, ist kennzeichnend für hochgradig plastische und integrativ arbeitende Neuronen (Wickens 1988; Yuste & Denk 1995).

Die stärksten efferenten Projektionen zu anderen sensomotorischen Interfacestrukturen und prämotorischen Zentren wiesen der posteriore und der ventromediale Thalamus auf (vgl. 4.2.2.2.). Über diese Projektionen könnten beide Kerne Einfluss auf motorische Prozesse wie die Vokalisation, die Lokomotion und Orientierungsbewegungen nehmen. Entsprechende Efferenzen des centralen und anterioren Thalamus waren deutlich schwächer ausgeprägt. Über Projektionen zum Praetectum, zum Tegmentum, zum Tectum opticum, zum Torus semicircularis und zum Nucleus visceralis secundarius könnten allerdings auch diese Kerne an der motorischen Steuerung beteiligt sein (vgl. 4.2.2.2.). Projektionen des posterioren und ventromedialen Thalamus zu endokrinen Regulationszentren waren nur schwach. Dies deutet auf eine vergleichsweise geringe Bedeutung bei der Steuerung der Hormonproduktion hin. Im Gegensatz dazu wies der centrale Thalamus starke Projektionen zur Area praeoptica anterior und zum ventralen Hypothalamus auf. Auch der anteriore Thalamus war mit beiden Gebieten verbunden (vgl. 4.2.2.2.). Zusammenfassend lassen diese Befunde vermuten, dass der posteriore und der ventromediale Thalamus über ihre deszendierenden Projektionen zu prämotorischen Zentren insbesondere kurzfristig wirksame Funktionen bei sensomotorischen Integrationsprozessen haben. Der anteriore und besonders der centrale Thalamus könnten hingegen über ihre engeren Verbindungen zu endokrinen Regulationszentren das akustisch gesteuerte Verhalten der Anuren langfristig modulieren. Einzelne neuronale Elemente des centralen und anterioren Thalamus könnten aber auch direkt an der audiomotorischen Integration beteiligt sein.

Dass einzelne Neuronen der thalamischen Kerne sensomotorische Interfacestrukturen darstellen können, legen Einzelzelluntersuchungen von Roth et al. (im Druck) nahe. Bei diesen Untersuchungen wurden im posterioren, centralen und ventralen Thalamus visuell erregbare Neuronen gefunden, welche selbst direkte deszendierende Projektionen zum Hirnstamm aufwiesen. Einige visuell erregbare Neuronen im centralen und ventralen Thalamus zeigten zusätzlich ascendierende Projektionen zum Striatum und zur Amygdala. Über ihre axonalen Projektionen könnten diese Neuronen koordiniert prämotorische Zentren und übergeordnete Steuerzentren des Vorderhirns ansteuern. Einzelne neuronale Elemente im Thalamus könnten also visuomotorische Integrationseinheiten darstellen. Vermutlich existieren vergleichbare Neuronentypen im Thalamus, die an der audiomotorischen Integration beteiligt sind. Auditorisch erregbare Einzelneuronen mit deszendierenden Projektionen zu prämotorischen Zentren und ascendierenden Projektionen zum Vorderhirn konnten bereits im Torus semicircularis nachgewiesen werden (Luksch 1994; Walkowiak & Luksch 1994; Luksch & Walkowiak 1998).

Die thalamische Kerne könnten außerdem sensitiv für Neuromodulatoren sein. Dies legen immunohistochemische Untersuchungen nahe, die im Institut von Heike Endepols und Harald Luksch durchgeführt wurden. Bei diesen Untersuchungen wurden im Thalamus von Anuren axonale Terminalien gefunden, in denen Leu-enkephalin, Substance P, Enkephalin und Tyrosinhydroxylase (kennzeichnet noradrenerge und dopaminerge Fasern) lokalisiert war. Interessanterweise war die Dichte dieser Fasern im centralen Thalamus besonders niedrig und im posterioren und ventralen Thalamus besonders hoch (Heike Endepols, persönliche Mitteilung). Zwar ist nicht genau geklärt, welche Rolle Neuromodulatoren bei sensomotorischen Integrationsprozessen spielen. Dennoch wurde eine hohe Konzentration von Neuromodulatoren auch in anderen sensomotorischen Interfacestrukturen beobachtet. So stellt beispielsweise der Nucleus laminaris die wichtigste audiomotorische Interfacestruktur im Torus semicircularis dar. Bei immunohistochemischen Untersuchungen wurde innerhalb des Torus in diesem Kerngebiet eine besonders hohe Konzentration verschiedener Neuromodulatoren gefunden (Luksch 1994; Walkowiak & Luksch 1994; Endepols et al. 2000). Die hohe Konzentration von Neuromodulatoren im posterioren und ventralen Thalamus könnte demnach ein Hinweis auf die besondere Bedeutung dieser Kerne bei sensomotorischen Integrationsprozessen im Diencephalon sein.

4.5.2. Sensomotorische Integration im Telencephalon

Im Telencephalon erhielt das Striatum gleichzeitig auditorische Eingänge und wies direkte efferente Projektionen zu prämotorischen Zentren, verschiedenen sensomotorischen Interfacestrukturen und endokrinen Regulationszentren auf (vgl. 4.3.1.2. und 4.3.1.3.).

Das Striatum der Anuren ist an der Verarbeitung multisensorischer Informationen beteiligt. So wurden bei Extrazellulärableitungen Antworten auf akustische, optische und taktile Stimuli registriert (Supin & Guselnikov 1964; Gruberg und Ambros 1974; Mudry & Capranica 1980; Birkhofer et al. 1994; Buxbaum-Conradi und Ewert 1999). Außerdem wurden Projektionen des Bulbus olfactorius zum Striatum beobachtet, welche olfaktorische Informationen vermitteln könnten (Veenman et al. 1989). In der vorliegenden Arbeit konnte erstmals nachgewiesen werden, dass sensorische Informationen unterschiedlicher Modalitäten auf der Ebene einzelner striataler Neuronen konvergieren (vgl. 4.3.2.3.). Anders als die thalamischen Kerne erhielten die Basalganglien jedoch keine oder nur sehr schwache direkte Eingänge aus Hirnregionen, welche dem limbischen System zuzuordnen sind und Informationen über den endogenen Zustand des Individuums vermitteln könnten. Möglicherweise erreichen solche Informationen das Striatum über polysynaptische Bahnen. So erhielt beispielsweise der zentrale Thalamus, welcher selbst starke Projektionen zum Striatum aufwies, Eingänge aus dem Hypothalamus. Ein Großteil der striatalen Neuronen wies bei den Tracingstudien Dendriten mit einem dichten Besatz von Spines auf, welche integrativ arbeitende Neuronen auszeichnen (Wickens 1988; Yuste & Denk 1995). Die Intrazellulärmarkierungen zeigten außerdem, dass sich die Dendritenbäume einzelner, sensorisch erregbarer Neuronen über mehrere hundert Mikrometer in der rostrocaudalen Ausdehnung des Gehirns und somit über ein relativ großes Areal erstrecken. Auf der Ebene des Striatum kann also eine Konvergenz verschiedener verhaltensrelevanter Informationen stattfinden.

Gleichzeitig zeichneten sich die axonalen Projektionen des Striatum durch eine starke Divergenz aus. So war das Striatum mit fast allen Kerngebieten reziprok verbunden, aus denen es afferente Projektionen erhielt. Zusätzlich steuerte es eine Reihe von Strukturen an, über die es das akustisch gesteuerte Verhalten der Anuren direkt und indirekt regulieren könnte (vgl. 4.3.1.3.). Die Einzelzellanfärbungen zeigten, dass die starke Divergenz der efferenten Projektionen der Basalganglien auch einzelne neuronale Einheiten charakterisiert.

Mit Hilfe von Immunfärbungen konnten verschiedene Autoren im Striatum der Anuren eine Reihe von Neuromodulatoren nachweisen, die vermutlich wie bei Säugern eine wichtige modulierende Funktion bei der Informationsverarbeitung haben. In diesem Zusammenhang spielen beispielsweise die dopaminergen Eingänge aus dem posterioren Tuberculum eine Rolle (Marín et al. 1997a). Außerdem wurden Substance P und Enkephalin im Striatum der Anuren nachgewiesen (Marín et al. 1998d).

Die septalen Kerne erhielten ebenfalls auditorische Eingänge (vgl. 4.4.1.1.). Sie wiesen aber keine deszendierenden Projektionen zu prämotorischen Zentren auf (vgl. 4.4.1.2.). Die septalen Kerne stellen daher keine audiomotorischen Integrationszentren mit einem direkten Zugang zur Motorik dar. Allerdings könnten sie das akustisch gesteuerte Verhalten über ihre starken Projektionen zu endokrinen Regulationszentren langfristig beeinflussen. Außerdem könnte das Septum laterale über Projektionen zum ventromedialen und posterioren Thalamus und zum Nucleus laminaris des Torus semicircularis modulierend auf die Informationsverarbeitung in diesen audiomotorischen Interfacestrukturen einwirken (vgl. 4.4.1.2.).

4.5.3. Schlussbetrachtung zur audiomotorischen Integration bei Anuren

In der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, dass verschiedene thalamische Kerne und die Basalganglien der Anuren audiomotorische Interfacestrukturen des Vorderhirns darstellen. Diese Strukturen sind Teil eines Netzwerks von Kerngebieten, die in ihrer Gesamtheit ein Bindeglied zwischen auditorischen Eingängen und der motorischen Mustergenerierung bilden. Zu diesem Netzwerk zählen außerdem die Area praeoptica anterior, verschiedene Kerne des Torus semicircularis, das Tegmentum, der Nucleus praetrigeminalis, der Nucleus visceralis secundarius und möglicherweise auch Stationen der niederen Hörbahn. Die verschiedenen Kerngebiete sind untereinander verbunden und nicht eindeutig der sensorischen und motorischen Seite zuzuordnen. Audiomotorische Integrationsprozesse finden vermutlich parallel in den unterschiedlichen Kerngebieten dieses Netzwerkes statt, wobei auch andere sensorische und nicht-sensorische Informationen berücksichtigt werden. Es gibt demnach keine oberste Instanz, in der eine Entscheidung über eine adäquate Reaktion auf eine sensorische Information aus der Außenwelt getroffen wird. Dennoch haben die einzelnen Interfacestrukturen im Gehirn vermutlich unterschiedliche Aufgaben. Die Interfacestrukturen des Vorderhirns könnten dabei insbesondere eine modulierende Funktion ausüben und für eine gewisse Variabilität

bezüglich des akustisch gesteuerten Verhaltens der Anuren verantwortlich sein. Zukünftige Untersuchungen an Anuren könnten helfen, grundlegende Mechanismen sensomotorischer Integrationsprozesse im Vorderhirn von Wirbeltieren aufzuklären.

5. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde untersucht, welche Bedeutung der Thalamus, das Striatum und verschiedene septale Kerne für das akustisch gesteuerte Verhalten der Anuren haben. Dabei stand die Frage nach audiomotorischen Integrationsprozessen im Vordergrund. Die Untersuchungen wurden *in vitro* an einem isolierten Ganzhirnpräparat von *Hyla versicolor* und *Bombina orientalis* durchgeführt.

Anhand einer extrazellulären Kartierung von evozierten Potentialen im Diencephalon von *Hyla versicolor* wurde gezeigt, dass neben dem posterioren, centralen und anterioren Kern des dorsalen Thalamus auch der ventromediale Thalamus an der Verarbeitung auditorischer Informationen beteiligt ist. Extrazelluläre Tracingstudien mit Neurobiotin belegten Eingänge des ventromedialen Thalamus aus vorgeschalteten Hörbahnstationen. Die physiologischen und anatomischen Befunde erlaubten eine Erweiterung des bisherigen Modells der Hörbahn der Anuren.

Die Tracingstudien zeigten, dass der posteriore und der ventromediale Thalamus die stärksten deszendierenden Projektionen zu prämotorischen Zentren und sensomotorischen Interfacestrukturen des Hirnstamms aufweisen. Der anteriore und centrale Thalamus waren hingegen stärker mit endokrinen Regulationszentren verbunden. Die unterschiedlichen Funktionen der thalamischen Kerne bei der audiomotorischen Integration werden diskutiert.

Extrazellulär- und Intrazellulärableitungen im Telencephalon belegten, dass das Striatum auditorische und visuelle Informationen verarbeitet. Dabei wurde erstmals gezeigt, dass die bimodale Eingänge auf der zellulären Ebene konvergieren. Extrazelluläre Tracingstudien und hier erstmals durchgeführte Einzelzellanfärbungen wiesen weitreichende deszendierende Projektionen des Striatum zu prämotorischen Kerngebieten und zu endokrinen Regulationszentren nach. Das Striatum stellt somit eine wichtige sensomotorische Interfacestruktur im Telencephalon der Anuren dar.

Vorhergehende elektrophysiologische Untersuchungen gaben Hinweise auf auditorische Eingänge der septalen Kerne. Die hier erstmals durchgeführten Tracingstudien in diesen Kerngebieten zeigten keine bedeutenden Projektionen zu prämotorischen Zentren. Es wird diskutiert, inwiefern das Septum das akustisch gesteuerte Verhalten von Anuren indirekt beeinflussen kann.

Die Tracingstudien zeigten, dass das Striatum der Anuren in Subareale untergliedert werden kann, die große Ähnlichkeiten mit dem dorsalen striatopallidalen System der Amnioten aufweisen. Ein Vergleich der Basalganglien bei Amnioten und Anuren unter hodologischen Gesichtspunkten wird diskutiert.

6. Literatur

- Adams JC (1981): Heavy metal intensification of DAB-based HRP reaction product. *J Histochem Cytochem* 29:775.
- Akef MSA, Schneider H (1985): Vocalization, courtship and territoriality in the Chinese fire-bellied toad *Bombina orientalis* (Anura, Discoglossidae). *Zool Jb Physiol* 89:119-136.
- Albin RL, Young AB, Penney JB (1989): The functional anatomy of basal ganglia disorders. *Trends Neurosci* 12:366-375.
- Alexander GE, Crutcher MD (1990): Functional architecture of basal ganglia circuits: neural substrates of parallel processing. *Trends Neurosci* 13:266-271.
- Allison JD, Wilczynski W (1991): Thalamic and midbrain auditory projections to the preoptic area and ventral hypothalamus in the green treefrog (*Hyla cinerea*). *Brain Behav Evol* 38:322-331.
- Barnes KL, McQueeney AJ, Barrett WR, Knowles WD (1994): Morphology and projections of neurobiotin-labeled nucleus tractus solitarii neurons recorded in vitro. *Brain Res Bull* 34:339-348.
- Bee MA, Schachtman TR (2000): Is habituation a mechanism for neighbor recognition in green frogs? *Behav Ecol Sociobiol* 48:165-168.
- Birkhofer M, Bleckmann H, Gerner P (1994): Sensory activity in the telencephalon of the clawed toad, *Xenopus laevis*. *Eur J Morphol* 32:262-266.
- Brown WT, Marks WB (1977): Unit responses in the frog's caudal thalamus. *Brain Behav Evol* 14:274-297.
- Bruce LL, Neary TJ (1995): The limbic system of tetrapods: a comparative analysis of cortical and amygdalar populations. *Brain Behav Evol* 46:224-234.
- Brzoska J (1982): Vocal response of male european water frogs (*Rana esculenta* complex) to mating and territorial calls. *Behav Process* 7:37-47.
- Brzoska J (1984): The electrodermal response and other behavioral responses of the grass frog to natural and synthetic calls. *Zool Jb Physiol* 88:179-192.
- Brzoska J, Obert HJ (1980): Acoustic signals influencing the hormone production of the testes in the grass frog *Rana temporaria*. *J Comp Physiol* 140:25-30.
- Burck HC (1988): Histologische Technik: Leitfaden für die Herstellung mikroskopischer Präparate in Unterricht und Praxis. Thieme, Stuttgart, New York.
- Bush SL, Gerhardt HC, Schul J (2002): Pattern recognition and call preferences in treefrogs (Anura: Hylidae): a quantitative analysis using a no-choice paradigm. *Anim Behav* 63:7-14.

- Butler AB, Hodos W (1996): Comparative vertebrate neuroanatomy: Evolution and adaptation. Wiley, New York, Chichester, Brisbane, Toronto, Singapore, pp. 438-462.
- Buxbaum-Conradi H, Ewert JP (1999): Responses of single neurons in the toad's caudal ventral striatum to moving visual stimuli and test of their efferent projection by extracellular antidromic stimulation/recording techniques. *Brain Behav Evol* 54:338-354.
- Cannatella DC (1985): A phylogeny of primitive frogs (archaeobatrachians). PhD Dissertation, University of Kansas, Lawrence.
- Capranica RR (1965): The evoked vocal response of the bullfrog: a study of communication by sound. *Res Monogr* 33, MIT Press, Cambridge, MA.
- Cherry MJ (1993): Sexual selection in the raucous toad, *Bufo rangeri*. *Anim Behav* 45:359-373.
- Conant R (1975): A field guide to reptiles and amphibians of Eastern and Central North America. Houghton Mifflin Company, Boston, pp. 323-324.
- Davis MS (1988): Acoustically mediated neighbour recognition in the North American bullfrog, *Rana catesbeiana*. *Behav Ecol Sociobiol* 21:185-190.
- Delaney KR, Hall BJ (1996): An in vitro preparation of frog nose and brain for the study of odour-evoked oscillatory activity. *J Neurosci Methods* 68:93-202.
- DeLong MR (1990): Primate models of movement disorders of basal ganglia origin. *Trends Neurosci* 13:281-285.
- DeLong MR, Alexander GE, Mitchell SJ, Richardson RT (1986): The contribution of basal ganglia to limb control. *Prog Brain Res* 64:161-174.
- Dermietzel R, Spray DC (1993): Gap junctions in the brain: where, what type, how many and why? *Trends Neurosci* 16:186-192.
- Dicke U (1999): Morphology, axonal projection pattern, and response types of tectal neurons in plethodontid salamanders. I: tracer study of projection neurons and their pathways. *J Comp Neurol* 404:473-488.
- Dierickx K (1974): Identification of adeno-hypophysiotropic neurohormone. In: Knowles F, Vollrath L (eds): *Neurosecretion – the final neuroendocrine pathway*. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York, pp.-811.
- Disney A, Calford MB (2001): Neurosteroids mediate habituation and tonic inhibition in the auditory midbrain. *J Neurophysiol* 86:1052-1056.
- Endepols H, Gerhardt HC, Feng AS, Schul J, Walkowiak W (eingereicht [a]): Effects of thalamic lesions on selective phonotaxis in female gray treefrogs (*Hyla versicolor*). *Behav Brain Res*.
- Endepols H, Roden K, Luksch H, Dicke U, Walkowiak W (eingereicht [b]): The dorsal striatopallidal system in anurans. *J Comp Neurol*.

- Endepols H, Walkowiak W (1999): Influence of descending forebrain projections on processing of acoustic signals and audiomotor integration in the anuran midbrain. *Eur J Morphol* 37:182-184.
- Endepols H, Walkowiak W, Luksch H (2000): Chemoarchitecture of the anuran auditory midbrain. *Brain Res Rev* 33:179-198.
- Endepols H, Walkowiak W (2001): Integration of ascending and descending inputs in the auditory midbrain of anurans. *J Comp Physiol A* 186:1119-1133.
- Epping WJ, Eggermont JJ (1986): Sensitivity of neurons in the auditory midbrain of the grassfrog to temporal characteristics of sound. II. Stimulation with amplitude modulated sound. *Hear Res* 24:55-72.
- Ernst M, Bolla K, Mouratidis M, Contoreggi C, Matochik JA, Kurian V, Cadet JL, Kimes AS, London ED (2002): Decision-making in a risk-taking task: a PET study. *Neuropsychopharmacology* 26:682-691.
- Ewert JP (1967): Untersuchungen über die Anteile zentralnervöser Aktionen an der taxisspezifischen Ermüdung der Erdkröte (*Bufo bufo* L.) *Z vergl Physiol* 61:41-70.
- Ewert JP (1970): Neural mechanisms of prey-catching and avoidance behavior in the toad (*Bufo bufo* L.). *Brain Behav Evol* 3:36-56.
- Ewert JP (1984): Tectal mechanisms that underlie prey-catching and avoidance behaviors in toads. In: Vanegas H (ed): *Comparative neurology of the optic tectum*. Plenum Press, New York, pp. 247-416.
- Ewert JP (1987): Neuroethology of releasing mechanism: prey-catching in toads. *Behav Brain Sci* 10:337-405.
- Faull RL, Mehler WR (1978): The cells of origin of nigrotectal, nigrothalamic and nigrostriatal projections in the rat. *Neuroscience* 3:989-1002.
- Feng AS (1986a): Afferent and efferent innervation patterns of the superior olivary nucleus of the leopard frog. *Brain Res* 364:167-171.
- Feng AS (1986b): Afferent and efferent innervation patterns of the cochlear nucleus (dorsal medullary nucleus) of the leopard frog. *Brain Res* 367:183-191.
- Feng AS, Capranica RR (1976): Sound localization in anurans. I. Evidence of binaural interaction in dorsal medullary nucleus of bullfrogs (*Rana catesbeiana*). *J Neurophysiol* 39:871-881.
- Feng AS, Capranica RR (1978): Sound localization in anurans. II. Binaural interaction in superior olivary nucleus of the green tree frog (*Hyla cinerea*). *J Neurophysiol* 41:43-54.
- Feng AS, Hall JC, Gooler DM (1990): Neural basis of sound pattern recognition in anurans. *Prog Neurobiol* 34:313-329.
- Feng AS, Lin WY (1991): Differential innervation patterns of three divisions of frog auditory midbrain (torus semicircularis). *J Comp Neurol* 306:613-630.

- Ford LS, Cannatella DC (1993): The major clades of frogs. *Herp Monogr* 7:94-117.
- Foster WA (1967): Chorus structure and vocal response in the Pacific treefrog, *Hyla regilla*. *Herpetologica* 23:100-104.
- Frontera JG (1952): A study of the anuran diencephalon. *J Comp Neurol* 96:1-69.
- Fuzessery ZN (1988): Frequency tuning in the anuran central auditory system. In: Fritzsche B, Ryan MJ, Wilczynski W, Hetherington TE, Walkowiak W (eds): The evolution of the amphibian auditory system. Wiley, New York, pp. 159-183.
- Fuzessery ZN, Feng AS (1983): Mating call selectivity in the thalamus and midbrain of the leopard frog (*Rana p. pipiens*): single and multiunit analyses. *J Comp Physiol A* 150:333-344.
- Gerfen CR (1992): The neostriatal mosaic: multiple levels of compartmental organization in the basal ganglia. *Annu Rev Neurosci* 15:285-320.
- Gerhardt HC (1982): Sound pattern recognition in some North American treefrogs (Anura: Hylidae): implications for mate choice. *Am Zool* 22:581-595.
- Gerhardt HC, Huber F (2002): Acoustic communication in insects and anurans: common problems and diverse solutions. The University of Chicago Press, Chicago, London.
- Graybiel AM (1973): The thalamo-cortical projection of the so-called posterior nuclear group: a study with anterograde degeneration methods in the cat. *Brain Res* 49:229-244.
- Graybiel AM (1990): Neurotransmitters and neuromodulators in the basal ganglia. *Trends Neurosci* 13:244-254.
- Groenewegen HJ, Berendse HW (1994): The specificity of the 'nonspecific' midline and intralaminar thalamic nuclei. *Trends Neurosci* 17:52-57.
- Groves PM, Thompson RF (1970): Habituation: a dual-process theory. *Psychol Rev* 77:419-450.
- Gruberg ER, Ambros VR (1974): A forebrain visual projection in the frog (*Rana pipiens*). *Exp Neurol* 44:187-97.
- Hall RD (1968): Habituation of evoked potentials in the rat under conditions of behavioral control. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 24:155-165.
- Hall J (1994): Central processing of communication sounds in the anuran auditory system. *Amer Zool* 34:670-684.
- Hall J, Feng AS (1986): Neural analysis of temporally patterned sounds in the frog's thalamus: processing of pulse duration and pulse repetition rate. *Neurosci Lett* 63:215-220.
- Hall JC, Feng AS (1987): Evidence for parallel processing in the frog's auditory thalamus. *J Comp Neurol* 258:407-419.
- Hall JC, Feng AS (1988): Influence of envelope rise time on neural responses in the auditory system of anurans. *Hear Res* 36:261-276

- Halpern M (1972): Some connections of the telencephalon of the frog, *Rana pipiens*. An experimental study. *Brain Behav Evol* 6:42-68.
- Hanke W (1976): Neuroendocrinology. In: Llinás R, Precht W (eds): *Frog neurobiology*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, pp. 975-1020.
- Hay JM, Ruvinsky I, Hedges SB, Maxson LR (1995): Phylogenetic relationships of amphibian families inferred from DNA sequences of mitochondrial 12S and 16S ribosomal RNA genes. *Mol Biol Evol* 12:928-937.
- Hazlett EA, Buchsbaum MS, Tang CY, Fleischman MB, Wei TC, Byne W, Haznedar MM (2001): Thalamic activation during an attention-to-prepulse startle modification paradigm: a functional MRI study. *Biol Psychiatry* 50:281-291.
- Hermes DJ, Eggermont JJ, Aertsen AM, Johannesma PI (1982): Spectro-temporal characteristics of single units in the auditory midbrain of the lightly anaesthetised grass frog (*Rana temporaria* L.) investigated with tonal stimuli. *Hear Res* 6:103-126.
- Herrero MT, Barcia C, Navarro M (2002): Functional anatomy of thalamus and basal ganglia. *Childs Nerv Syst* 18:386-404.
- Herrmann HJ, Koepernik U, Matz W, Bech R, Gassel R, Utjeshov V (1987): Systematik, Verbreitung, Biologie, Ökologie und Terrarienhaltung der Discoglossidae, Günther 1859, (Amphibia, Anura). *Veröff Naturhist Mus Schleusingen* 2:1-95.
- Hillery CM, Narins PM (1984): Neurophysiological evidence for a traveling wave in the amphibian inner ear. *Science* 225:1037-1039.
- Horikawa K, Armstrong WE (1988): A versatile means of intracellular labeling: injection of biocytin and its detection with avidin conjugates. *J Neurosci Methods* 25:1-11.
- Huang Q, Zhou D, DiFiglia M (1992): Neurobiotin, a useful neuroanatomical tracer for in vivo anterograde, retrograde and transneuronal tract-tracing and for in vitro labeling of neurons. *J Neurosci Methods* 41:31-43.
- Inagaki S, Senba E, Shiosaka S, Takagi H, Kawai Y, Takatsuki K, Sakanaka M, Matsuzaki T, Tohyama M (1981): Regional distribution of substance P-like immunoreactivity in the frog brain and spinal cord: immunohistochemical analysis. *J Comp Neurol* 201:243-254.
- Inase M, Li BM, Tanji J (1997): Dopaminergic modulation of neuronal activity in the monkey putamen through D1 and D2 receptors during a delayed Go/Nogo task. *Exp Brain Res* 117:207-218.
- Izzo PN (1991): A note on the use of biocytin in anterograde tracing studies in the central nervous system: application at both light and electron microscopic level. *J Neurosci Methods* 36:155-166.
- Jaffe SL, Bourlier PF, Hagamen WD (1969): Adaptation of evoked auditory potentials: a midbrain through frontal lobe map in the unanesthetized cat. *Brain Res* 15:121-136.

- Kawaguchi Y, Wilson CJ, Emson PC (1989): Intracellular recording of identified neostriatal patch and matrix spiny cells in a slice preparation preserving cortical inputs. *J Neurophysiol* 62:1052-1068.
- Kelley DB (1980): Auditory and vocal nuclei in the frog brain concentrate sex hormones. *Science* 207:553-555.
- Kelley DB (1981): Locations of androgen-concentrating cells in the brain of *Xenopus laevis*: autoradiography with 3H-dihydrotestosterone. *J Comp Neurol* 199:221-231.
- Kelley DB, Morrell JI, Pfaff DW (1975): Autoradiographic localization of hormone-concentrating cells in the brain of an amphibian, *Xenopus laevis*. I. Testosterone. *J Comp Neurol* 164:47-59.
- Kicliter E (1979): Some telencephalic connections in the frog, *Rana pipiens*. *J Comp Neurol* 185:75-86.
- Kicliter E, Northcutt RG (1975): Ascending afferents to the telencephalon of ranid frogs: an anterograde degeneration study. *J Comp Neurol* 161:239-253.
- Kita H, Armstrong W (1991): A biotin-containing compound N-(2-aminoethyl)biotinamide for intracellular labeling and neuronal tracing studies: comparison with biocytin. *J Neurosci Methods* 37:141-150.
- Klein M (2000): Auditorische Eingänge ins limbische System von *Bombina orientalis*. Diplomarbeit, Universität zu Köln.
- Knorr A (1976): Central control of mating call production and spawning in the tree frog *Hyla arborea savigny* (Audouin): results of electrical stimulation of the brain. *Behav Proc* 1:259-317.
- Knowlton BJ, Mangels JA, Squire LR (1996): A neostriatal habit learning system in humans. *Science* 273:1399-1402.
- Kreyszig E (1982): Statistische Methoden und ihre Anwendungen. Vandenhoeck und Ruprecht, Göttingen.
- Krug M (1997): Tierexperimentelle elektrophysiologische Methoden. In: Kischka U, Wallesch CW, Wolf G (Hrsg): Methoden der Hirnforschung: eine Einführung. Spektrum Akad Verl, Heidelberg, Berlin, S. 139-166.
- Lapper SR, Bolam JP (1991): The anterograde and retrograde transport of neurobiotin in the central nervous system of the rat: Comparison with biocytin. *J Neurosci Methods* 39:163-174.
- Leathem JM, Martin GT (2001): Cognitive deficits due to asymmetrical bilateral thalamic lesions. *Brain Inj* 15:455-462.
- Leung LWS (1990): Field potentials in the central nervous system. In: Clifton NJ (ed): Neuromethods. Humana Press, Totowa, pp. 277-312.
- Locke S (1970): Subcortical projection of the magnocellular medial geniculate body of monkey. *J Comp Neurol* 138:321-328.

- Loftus-Hills JJ, Johnstone BM (1970): Auditory function, communication, and the brain-evoked responses in anuran amphibians. *J acoust Soc Amer* 47:1131-1138.
- Luksch H (1994): Das auditorische Mittelhirn von *Discoglossus pictus*: Neuroanatomische und -physiologische Untersuchungen zu audio-motorischen Interaktionen. Dissertation, Universität zu Köln.
- Luksch H, Walkowiak W, Munoz A, Ten Donkelaar HJ (1996): The use of in vitro preparations of the isolated amphibian central nervous system in neuroanatomy and electrophysiology. *J Neurosci Methods* 70:91-102.
- Luksch H, Walkowiak W (1998): Morphology and axonal projection patterns of auditory neurons in the midbrain of the painted frog, *Discoglossus pictus*. *Hear Res* 122:1-17.
- Luksch H, Kahl H, Wiggers W, Roth G (1998): Connectivity of the salamander pretectum: an in-vitro (whole-brain) intracellular tracing study. *Cell Tissue Res* 292:47-56.
- Luo P, Dessem D (1996): Transneuronal transport of intracellularly injected biotinamide in primary afferent axons. *Brain Res Bull* 39:323-334.
- Marín O, Smeets WJ, González A (1997a): Basal ganglia organization in amphibians: catecholaminergic innervation of the striatum and the nucleus accumbens. *J Comp Neurol* 378:50-69.
- Marín O, González A, Smeets WJ (1997b): Basal ganglia organization in amphibians: afferent connections to the striatum and the nucleus accumbens. *J Comp Neurol* 378:16-49.
- Marín O, González A, Smeets WJ (1997c): Basal ganglia organization in amphibians: efferent connections of the striatum and the nucleus accumbens. *J Comp Neurol* 380:23-50.
- Marín O, González A, Smeets WJ (1997d): Anatomical substrate of amphibian basal ganglia involvement in visuomotor behaviour. *Eur J Neurosci* 9:2100-2109.
- Marín O, González A, Smeets WJ (1998a): Amphibian basal ganglia control of tectal function: a complex matter. *Trends Neurosci* 21:336-337.
- Marín O, Smeets WJ, González A (1998b): Evolution of the basal ganglia in tetrapods: a new perspective based on recent studies in amphibians. *Trends Neurosci* 21:487-494.
- Marín O, Smeets WJ, González A (1998c): Basal ganglia organization in amphibians: evidence for a common pattern in tetrapods. *Prog Neurobiol* 55:363-397.
- Marín O, Smeets WJ, González A (1998d): Basal ganglia organization in amphibians: chemoarchitecture. *J Comp Neurol* 392:285-312.
- Matsumoto N, Schwippert WW, Beneke TW, Ewert JP (1991): Forebrain-mediated control of visually guided prey-catching in toads: investigation of striato-pretectal connections with intracellular recording/labeling methods. *Behav Proc* 25:27-50.

- McCreery BR (1984): Pituitary gonadotropin release by graded electrical stimulation of the preoptic area in the male bullfrog, *Rana catesbeiana*. Gen Comp Endocrinol 55:367-372.
- McDonald RJ, White NM (1993): A triple dissociation of memory systems: hippocampus, amygdala, and dorsal striatum. Behav Neurosci 107:3-22
- Medina L, Reiner A (1995): Neurotransmitter organization and connectivity of the basal ganglia in vertebrates: implications for the evolution of basal ganglia. Brain Behav Evol 46:235-258.
- Medina L, Reiner A (1997): The efferent projections of the dorsal and ventral pallidal parts of the pigeon basal ganglia, studied with biotinylated dextran amine. Neuroscience 81:773-802.
- Megela AL (1982): Auditory response properties of the anuran thalamus: nonlinear facilitation. In: Ewert JP, Capranica RR, Ingle DJ (eds): Advances in vertebrate neuroethology. Plenum Press, New York, pp. 895-899.
- Megela AL, Capranica RR (1983): A neural and behavioural study of auditory habituation in the bullfrog, *Rana catesbeiana*. J Comp Physiol 151:423-434.
- Megela-Simmons A, Moss CF, Daniel KM (1985): Behavioral audiograms of the bullfrog (*Rana catesbeiana*) and the green tree frog (*Hyla cinerea*). J Acoust Soc Am 78:1236-1244.
- Meredith MA, Stein BE (1985): Descending efferents from the superior colliculus relay integrated multisensory information. Science 227:657-659.
- Meredith MA, Stein BE (1986): Visual, auditory, and somatosensory convergence on cells in superior colliculus results in multisensory integration. J Neurophysiol 56:640-662.
- Meredith MA, Wallace MT, Stein BE (1992): Visual, auditory and somatosensory convergence in output neurons of the cat superior colliculus: multisensory properties of the tecto-reticulo-spinal projection. Exp Brain Res 88:181-186.
- Mihaescu F (1998): Das auditorische Endhirn von *Discoglossus pictus*: Neurophysiologische und –anatomische Untersuchungen zur Hörbahn. Diplomarbeit, Universität zu Köln.
- Millar J (1992): Extracellular single and multiple unit recording with microelectrodes. In: Stamford JA (ed): Monitoring neuronal activity: A practical approach. Oxford University Press, Oxford, New York, Tokyo, pp. 1-26.
- Mills SL, Massey SC (1994): Distribution and coverage of A- and B-type horizontal cells stained with Neurobiotin in the rabbit retina. Vis Neurosci 11:549-560.
- Montgomery NM, Fite KV (1989): Retinotopic organization of central optic projections in *Rana pipiens*. J Comp Neurol 283:526-540.
- Montgomery NM, Fite KV (1991): Organization of ascending projections from the optic tectum and mesencephalic pretectal gray in *Rana pipiens*. Vis Neurosci 7:459-478.

- Mudry KM, Capranica RR (1980): Evoked auditory activity within the telencephalon of the bullfrog (*Rana catesbeiana*). Brain Res 182:303-311.
- Mudry KM, Capranica RR (1987a): Correlation between auditory evoked responses in the thalamus and species-specific call characteristics. I. *Rana catesbeiana* (Anura: Ranidae). J Comp Physiol A 160:477-489.
- Mudry KM, Capranica RR (1987b): Correlation between auditory thalamic area evoked responses and species-specific call characteristics. II. *Hyla cinerea* (Anura: Hylidae). J Comp Physiol A 161:407-416.
- Mudry KM, Constanine-Paton M, Capranica RR (1977): Auditory sensitivity of the diencephalon of the leopard frog (*Rana p. pipiens*) J Comp physiol A 114:1-13.
- Munoz A, Munoz M, González A, Ten Donkelaar HJ (1994): Spinothalamic projections in amphibians as revealed with anterograde tracing techniques. Neurosci Lett 171:81-84.
- Munoz A, Munoz M, González A, Ten Donkelaar HJ (1995): Anuran dorsal column nucleus: organization, immunohistochemical characterization, and fiber connections in *Rana perezi* and *Xenopus laevis*. J Comp Neurol 363:197-220.
- Munoz A, Munoz M, González A, Ten Donkelaar HJ (1997): Spinal ascending pathways in amphibians: cells of origin and main targets. J Comp Neurol 378:205-228.
- Neary TJ (1984): Anterior thalamic nucleus projections to the dorsal pallium in ranid frogs. Neurosci Lett 51:213-218.
- Neary TJ (1988): Forebrain auditory pathways in ranid frogs. In: Fritsch B, Ryan MJ, Wilczynski W, Hetherington TE, Walkowiak W (eds): The evolution of the amphibian auditory system. Wiley, New York, pp. 233-252.
- Neary TJ (1990): The pallium of anuran amphibians. In: Jones EG, Peters A (eds): Comparative structure and evolution of cerebral Cortex, Part I, Cerebral Cortex Vol. 8A. Plenum Press, New York, pp. 107-138.
- Neary TJ, Northcutt RG (1983): Nuclear organization of the bullfrog diencephalon. J Comp Neurol. 213:262-278.
- Nieuwenhuys R (1998): Structure and organization of centres. In: Nieuwenhuys R, Ten Donkelaar HJ, Nicholson C (eds): The central nervous system of vertebrates. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, Tokyo, pp. 25-112.
- Nistri A, Sivilotti L, Welsh DM (1990): An electrophysiological study of the action of N-methyl-D-aspartate on excitatory synaptic transmission in the optic tectum of the frog in vitro. Neuropharmacology 29:681-687.
- Northcutt RG (1995): The forebrain of gnathostomes: in search of a morphotype. Brain Behav Evol 46:275-318.
- Northcutt RG, Kicliter E (1980): Organization of the amphibian telencephalon. In: Ebesson SOE (ed): Comparative neurology of the telencephalon. Plenum Press, New York, pp. 203-255.

- Northcutt RG, Ronan M (1992): Afferent and efferent connections of the bullfrog medial pallium. *Brain Behav Evol* 40:1-16.
- Ohr EA (1976): Tricaine methanesulfonate - I. pH and its effect on anesthetic potency. *Comp Biochem Physiol* 54:13-17.
- Pape HC (1996): Queer current and pacemaker: the hyperpolarization-activated cation current in neurons. *Annu Rev Physiol* 58:299-327.
- Patton P, Grobstein P (1998a): The effects of telencephalic lesions on visually mediated prey orienting behavior in the leopard frog (*Rana pipiens*). I. The effects of complete removal of one telencephalic lobe, with a comparison to the effects of unilateral tectal lobe lesions. *Brain Behav Evol* 51:123-143.
- Patton P, Grobstein P (1998b): The effects of telencephalic lesions on visually mediated prey orienting behavior in the leopard frog (*Rana pipiens*). II. The effects of limited lesions to the telencephalon. *Brain Behav Evol* 51:144-161.
- Peinado A, Yuste R, Katz LC (1993): Extensive dye coupling between rat neocortical neurons during the period of circuit formation. *Neuron* 10:103-114.
- Penney JB, Young AB (1983): Speculations on the functional anatomy of basal ganglia disorders. *Annu Rev Neurosci* 6:73-94.
- Percheron G, Fenelon G, Leroux-Hugon V, Feve A (1994): History of the basal ganglia system. Slow development of a major cerebral system. *Rev Neurol* 150:543-554.
- Pettigrew AG (1981): Brainstem afferents to the torus semicircularis of the Queensland cane toad (*Bufo marinus*). *J Comp Neurol* 202:59-68.
- Potter HD (1965): Mesencephalic auditory region of the bullfrog. *J Neurophysiol* 28:1132-1154.
- Rao G, Barnes CA, McNaughton BL (1986): Intracellular fluorescent staining with carboxyfluorescein: a rapid and reliable method for quantifying dye-coupling in mammalian central nervous system. *J Neurosci Methods* 16:251-263.
- Redgrave P, Marrow L, Dean P (1992): Topographical organization of the nigrotectal projection in rat: evidence for segregated channels. *Neuroscience* 50:571-595.
- Redgrave P, Prescott TJ, Gurney K (1999): The basal ganglia: a vertebrate solution to the selection problem? *Neuroscience* 89:1009-1023.
- Reiner A (1994): Catecholaminergic innervation of the basal ganglia in mammals: anatomy and function. In: WJAJ Smeets and A Reiner (eds): *Phylogeny and development of catecholamine systems in the CNS of vertebrates*. Cambridge University Press, pp. 247-271.
- Reiner A, Medina L, Veenman CL (1998): Structural and functional evolution of the basal ganglia in vertebrates. *Brain Res Rev* 28:235-285.
- Reiner A, Northcutt RG (1987): An immunohistochemical study of the telencephalon of the African lungfish, *Protopterus annectens*. *J Comp Neurol* 256:463-481.

- Ronan MC, Northcutt RG (1979): Afferent and efferent connections of the bullfrog medial pallium. Soc Neurosci Abstr 5:146.
- Ronken DA (1990): Basic properties of auditory-nerve responses from a 'simple' ear: the basilar papilla of the frog. Hear Res 47:63-82.
- Rose GJ, Capranica RR (1985): Sensitivity to amplitude modulated sounds in the anuran auditory nervous system. J Neurophysiol 53:446-465.
- Roth G, Blanke J, Wake DB (1994): Cell size predicts morphological complexity in the brains of frogs and salamanders. Proc Natl Acad Sci USA 91:4796-4800.
- Roth G, Dicke U, Grunwald W (1999): Morphology, axonal projection pattern, and response types of tectal neurons in plethodontid salamanders. II: intracellular recording and labeling experiments. J Comp Neurol 404:489-504.
- Roth G, Grunwald W, Dicke U (im Druck): Morphology, axonal projection pattern and responses to optic nerve stimulation of thalamic neurons in the fire-bellied toad *Bombina orientalis*. J Comp Neurol.
- Roth G, Nishikawa KC, Naujoks-Manteuffel C, Schmidt A, Wake DB (1993): Paedomorphosis and simplification in the nervous system of salamanders. Brain Behav Evol 42:137-170.
- Roth G, Westhoff G (1999): Cytoarchitecture and connectivity of the amphibian medial pallium. Eur J Morphol 37:166-171.
- Roth G, Wullimann MF (1996): Evolution der Nervensysteme und der Sinnesorgane. In: Dudel J, Menzel R, Schmidt RF (Hrsg): Neurowissenschaft: Vom Molekül zur Kognition. Springer-Verlag, Berlin.
- Russchen FT, Smeets WJ, Hoogland PV (1987): Histochemical identification of pallidal and striatal structures in the lizard *Gekko gekko*: evidence for compartmentalization. J Comp Neurol 256:329-341.
- Sachs L (1984): Angewandte Statistik. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.
- Scalia F, Colman DR (1975): Identification of telencephalic-afferent thalamic nuclei associated with the visual system of the frog. Neurosci Abstr 1:46.
- Schaffer DD (1982): Comparative and descriptive aspects of neural correlates of mating calling in the isolated brainstem of *Rana p. pipiens*. Comp Biochem Physiol 72:371-375.
- Schmidt RS (1968): Preoptic activation of frog mating behavior. Behavior 30:239-257.
- Schmidt RS (1976): Neural correlates of frog calling: isolated brainstem. J Comp Physiol 108:99-113.
- Schmidt RS (1984): Neural correlates of frog calling: preoptic area trigger of 'mating calling'. J Comp Physiol A 154:847-853.
- Schultz W, Dayan P, Montague PR (1997): A neural substrate of prediction and reward. Science 275:1593-1599.

- Schwartz JJ, Wells KD (1983): An experimental study of acoustic interference between two species of neotropical treefrogs. *Anim Behav* 31:181-190.
- Sekirnjak C, du Lac S (2002): Intrinsic firing dynamics of vestibular nucleus neurons. *J Neurosci* 22:2083-2095.
- Shettleworth SJ (1998): Cognition, evolution, and behavior. Oxford University Press, Oxford.
- Shu S, Ju G, Fan L (1988): The glucose oxidase-DAB-nickel method in peroxidase histochemistry of the nervous system. *Neurosci Lett* 85:169-171.
- Sivilotti L, Nistri A (1986): Biphasic effects of glycine on synaptic responses of the frog optic tectum in vitro. *Neurosci Lett* 66:25-30.
- Smeets WJ, Marín O, González A (2000): Evolution of the basal ganglia: new perspectives through a comparative approach. *J Anat* 196:501-517.
- Smith AD, Bolam JP (1990): The neural network of the basal ganglia as revealed by the study of synaptic connections of identified neurones. *Trends Neurosci* 13:259-265.
- Staines WA, Fibinger HC (1984): Collateral projections of neurons of the rat globus pallidus to the striatum and substantia nigra. *Exp Brain Res* 56:217-220.
- Stein BE (1998): Neural mechanisms for synthesizing sensory information and producing adaptive behaviors. *Exp Brain Res* 123:124-135.
- Stein BE, Wallace MW, Stanford TR, Jiang W (2002): Cortex governs multisensory integration in the midbrain. *Neuroscientist* 8:306-314.
- Straka H, Dieringer N (1993): Electrophysiological and pharmacological characterization of vestibular inputs to identified frog abducens motoneurons and internuclear neurons in vitro. *Eur J Neurosci* 5:251-260.
- Strake J, Luksch H, Walkowiak W (1994): Audio-motor interface in anurans. *Eur J Morphol* 32:122-126.
- Suga N (1984): The extent to which biosonar information is represented in the bat auditory cortex. In: Edelman GM, Gall WE, Cowan WM (eds): *Dynamic aspects of neocortical function*. Wiley, New York, pp. 315-373.
- Supin AY, Guselnikov VI (1964): Representation of visual, auditory and somatosensory systems in frog forebrain. *Fiziol Zh (Mosk)* 50:426-434.
- Takahashi T, Moiseff A, Konishi M (1984): Time and intensity cues are processed independently in the auditory system of the owl. *J Neurosci* 4:1781-1786.
- Tasker JG, Hoffman NW, Dudek FE (1991): Comparison of three intracellular markers for combined electrophysiological, morphological and immunohistochemical analyses. *J Neurosci Methods* 38:129-143.
- Ten Donkelaar HJ (1998a): Anurans. In: Nieuwenhuys R, Ten Donkelaar HJ, Nicholson C (eds): *The central nervous system of vertebrates*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, Tokyo, pp. 1151-1314.

- Ten Donkelaar HJ (1998b): Reptiles. In: Nieuwenhuys R, Ten Donkelaar HJ, Nicholson C (eds): The central nervous system of vertebrates. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, Tokyo, pp. 1315-1524.
- Thompson RF, Spencer WA (1966): Habituation: A model phenomenon for the study of neuronal substrates of behavior. *Psychol Rev* 73:16-43.
- Turner RS, DeLong MR (2000): Corticostriatal activity in primary motor cortex of the macaque. *J Neurosci* 20:7096-7108.
- Ulinski PS (1976): Structure of anterior dorsal ventricular ridge in snakes. *J Morphol* 148:1-21.
- Urano A, Gorbman A (1981): Effects of pituitary hormonal treatment of responsiveness of anterior preoptic neurons in male leopard frogs, *Rana pipiens*. *J Comp Physiol* 141:163-171.
- Vaney DI (1991): Many diverse type of retinal neurons show tracer coupling when injected with biocytin or neurobiotin. *Neurosci Lett* 125:187-190.
- Vaney DI (1993): The coupling pattern of axon-bearing horizontal cells in the mammalian retina. *Proc R Soc Lond B Biol Sci* 252:93-101.
- Veenman CL, Crzan D, Kern H, Rickmann M, Wahle P, van Mier P (1989): The anatomical substrate for telencephalic function. *Adv Anat Embryol Cell Biol* 117:1-110.
- Wada M, Gorbman A (1977): Relation of mode of administration of testosterone to evocation of male sex behavior in frogs. *Horm Behav* 8:310-319.
- Walkowiak W (1980): The coding of auditory signals in the torus semicircularis of the fire-bellied toad and the grass frog: responses to simple stimuli and conspecific calls. *J Comp Physiol A* 138:131-148.
- Walkowiak W (1984): Neuronal correlates of the recognition of pulsed sound signals in the grass frog. *J Comp Physiol A* 155:57-66.
- Walkowiak W (1988): Central temporal encoding. In: Fritsch B, Ryan MJ, Wilczynski W, Hetherington TE, Walkowiak W (eds): The evolution of the amphibian auditory system. Wiley, New York, pp. 275-294.
- Walkowiak W (1992): Acoustic communication in the fire-bellied toad: an integrative neurobiological approach. *Ethol Ecol Evol* 4:63-74.
- Walkowiak W, Berlinger M, Schul J, Gerhardt HC (1999): Significance of forebrain structures in acoustically guided behavior in anurans. *Eur J Morphol* 37:177-181.
- Walkowiak W, Luksch H (1994): Sensory motor interfacing in acoustic behavior of anurans. *Amer Zool* 34:158-173.
- Webster WR (1971): The effects of repetitive stimulation on auditory evoked potentials. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 30:318-330.
- Webster WR, Bock GR (1971): The effects of repetitive stimulation on the rat inferior colliculus. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 30:331-336.
- Wells KD (1977): The social behaviour of anuran amphibians. *Anim Behav* 25:666-693.

- Wester K (1971): Habituation to electrical stimulation of the thalamus in unanaesthetized cats. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 30:52-61.
- Westhoff G (2000): Das mediale Pallium der Amphibien: Eine vergleichende anatomische Studie an *Discoglossus pictus* (Ordnung: Anura) und *Plethodon jordani* (Ordnung: Caudata). Dissertation, Universität Bremen.
- Westhoff G, Roth G (2002): Morphology and projection pattern of medial and dorsal pallial neurons in the frog *Discoglossus pictus* and the salamander *Plethodon jordani*. *J Comp Neurol* 445:97-121.
- Wickens J (1988): Electrically coupled but chemically isolated synapses: dendritic spines and calcium in a rule for synaptic modification. *Prog Neurobiol* 31:507-528.
- Wickelgren WO (1968): Effect of acoustic habituation on click-evoked responses in cats. *J Neurophysiol* 31:777-784.
- Wiggers W (1998): Isthmotectal connections in plethodontid salamanders. *J Comp Neurol* 395:261-272.
- Wiggers W, Roth G (1994): Depth perception in salamanders: The wiring of visual maps. *Eur J Morphol* 32:311-314.
- Wilczynski W (1981): Afferents to the midbrain auditory center in the bullfrog, *Rana catesbeiana*. *J Comp Neurol* 198:421-433.
- Wilczynski W (1992): The Nervous system. In: Feder ME, Burggren WW (eds): *Environmental physiology of the amphibians*. University of Chicago Press, Chicago, London, pp. 9-39.
- Wilczynski W, Allison JD (1989): Acoustic modulation of neural activity in the hypothalamus of the leopard frog. *Brain Behav Evol* 33:317-324.
- Wilczynski W, Capranica RR (1984): The auditory system of anuran amphibians. *Prog Neurobiol* 22:1-38.
- Wilczynski W, Northcutt RG (1983a): Connections of the bullfrog striatum: afferent organization. *J Comp Neurol* 214:321-332.
- Wilczynski W, Northcutt RG (1983b): Connections of the bullfrog striatum: efferent projections. *J Comp Neurol* 214:333-343.
- Will U, Fritzsche B (1988): The eighth nerve of amphibians: peripheral and central distribution. In: Fritzsche B, Ryan MJ, Wilczynski W, Hetherington TE, Walkowiak W (eds): *The evolution of the amphibian auditory system*. Wiley, New York, pp. 159-183.
- Xi XZ, Xu ZC (1996): The effect of neurobiotin on membrane properties and morphology of intracellularly labeled neurons. *J Neurosci Methods* 65:27-32.
- Yovanof S, Feng AS (1983): Effects of estradiol on auditory evoked responses from the frog's auditory midbrain. *Neurosci Lett* 36:291-297.
- Yuste R, Denk W (1995): Dendritic spines as basic functional units of neuronal integration. *Nature* 375:682-684.

7. Anhang

Tab. I Verbindungen des posterioren Thalamus (P)				
Kerngebiet	ipsilateral		contralateral	
	Afferenzen (Zellen)	Efferenzen (Terminalien)	Afferenzen (Zellen)	Efferenzen (Terminalien)
Gr	-	-	-	-
Mi	-	-	-	-
MP	+(r)	-	-	-
DP	-	-	-	-
LPv	-	-	-	-
LPd	-	-	-	-
MS	-	-	-	-
LS	+	-	+	-
DB	-	-	-	-
Std	+(c)	+(c)	-	+(c)
Stv	+(c)	+(c)	-	+(c)
Acc	-	+	-	-
AL	-	-	-	-
AM	+	++	-	+
AC	-	-/+	-	-
Ea	-	++/+++	-	+
POa	+	+	-	+
Mg	-	++	-	+
SC	+/++	++	-	+
TE	-	+	-	+
BN	-	+	-	+
Hb	-	+/++	-	-
Ep	+	+++ /++++	-	+
NB	++	++	-	+
VL	+++	+++	-	++
VM	+++	++++	+	++
A	+	++	-	+
C	+	+	-	+
P	++++	++++	++	++
La	-	+/++	-	+
Lpd	-	++++	-	++
Lpv	-	++	-	+
LH	-	-/+	-	-
VH	++	-/+	-	-
DH	-	-/+	-	-
TP	+/++	++	-	+
NMLF	++	+++	+	++
NPC	-	+++	-	+++
BON	-	+++	-	++
PtG	++/+++	++++	+	+/++
PtrG	++	++++	+	+/++
TeO	++/+++	++/+++	+	+
TI	-(r) ++(c-i)	+++	-	++
Tp	-	+	-	-/+
Tm	-	++	-	-/+
Tega	+++ (v)	+++	+	++
Tegp	+	++	+	+
Ip	-	+/++	-	+
LI	+	++	-	-/+
IsM	-	-	-	-
Visc	-	+	-	+
Fr	+++	+/++	+	+
Gc	+/++	++	+	+
Cb	-	+	-	-
Prtr	-	+	-	-
Os	-	+	-	-
NDL	-	+	-	++

Legende siehe Ende Anhang.

Tab II Verbindungen des centralen Thalamus (C)				
Kerngebiet	ipsilateral		contralateral	
	Afferenzen (Zellen)	Efferenzen (Terminalien)	Afferenzen (Zellen)	Efferenzen (Terminalien)
Gr	-	-	-	-
Mi	-	-	-	-
MP	+	+(r)	+	-
DP	-	-	-	-
LPv	-	++	-	-/+
LPd	-	+	-	-
MS	-	++(c-i)	-	+(c)
LS	+	++(c) +(r)	+	-/+
DB	-	+++ (c) +(r)	-	++(c)+(r)
Std	++(c) +(r)	++++	-	+(c)
Stv	++(c) +(r)	++++	-	+(c)
Acc	-	+ / ++	-	-
AL	-	+	-	+
AM	-	++	-	+
AC	-	++	-	+
Ea	-	++	-	+
POa	-	+++ (r) ++ (c)	-	+++ (r) + (c)
Mg	-	++ (d)	-	+
SC	+ / ++	++ (NP) + (KG)	-	+
TE	-	+	-	-
BN	-	++	-	-
Hb	-	-	-	-
Ep	++++	++++	-	+
NB	-	++	-	-
VL	+ / ++	+ / ++	-	-
VM	+ / ++	++	+(c-i)	-
A	++(c) -(r)	+ / ++	-	-
C	++++	++++	-	+
P	++	++	+	-
La	++	++++	-	+
Lpd	+	++	-	+(d)
Lpv	++	++++	-	-
LH	-	++	-	+
VH	++(r)	++++	+(r)	++
DH	+	-	-	-
TP	++(v)+(d)	+	-	-
NMLF	-	++	-	-
NPC	-	+++	-	-
BON	-	++(NP)	-	-
PtG	+++	++++	+	+
PtrG	++	+++	+	-
TeO	++	++ / +++	-	+
TI	+++	++	-	-
Tp	+	+	-	-
Tm	+	++	-	+
Tega	++ / +++ (d)	++ (d) + (v)	-	+
Tegp	++ / +++ (d)	++ (d) + (v)	-	+(d)
Ip	-	-	-	-
LI	- / +	++ / +++	-	-
IsM	-	-	-	-
Visc	++ / +++	++	+	-
Fr	+	-	-	-
Gc	+	-	-	-
Cb	-	-	-	-
Prtr	-	-	-	-
Os	++	++	-	-
Ndl	-	-	-	-

Legende siehe Ende Anhang.

Tab. III Verbindungen des anterioren Thalamus (A)				
Kerngebiet	ipsilateral		contralateral	
	Afferenzen (Zellen)	Efferenzen (Terminalien)	Afferenzen (Zellen)	Efferenzen (Terminalien)
Gr	-	+	-	-
Mi	-	+	-	-
MP	+	+++	+	+
DP	-	+ / ++	-	+
LPv	- / +	-	-	-
LPd	-	+	-	+
MS	-	+	-	-
LS	++	+++ / ++++	+	++
DB	-	++	-	+
Std	-	- / +	-	-
Stv	-	- / +	-	-
Acc	+	++	-	-
AL	- / +	-	-	-
AM	-	+ / +++ (NP)	-	+ (NP)
AC	-	-	-	-
Ea	- / +	++ (c) + (r)	-	+ (c) - (r)
POa	- / +	++	-	+
Mg	+	++	-	+
SC	++	+++ / ++++	+	+
TE	-	-	-	-
BN	- / +	++	-	-
Hb	++	++	-	-
Ep	+++	++++ (r) +++ (c)	-	++ (r) + (c)
NB	+	++++	+	++
VL	++	++	+ (d)	-
VM	++	++	+ (c)	-
A	++++	++++	+	+ / ++
C	+	+	-	-
P	++	++ (KG)	+	-
La	++ (r) + (c)	++++ (r) ++ (c)	-	++ (r) + (c)
Lpd	-	++	-	+
Lpv	-	++	-	+
LH	-	+ / ++	-	+
VH	++	+ (KG) ++ (NP)	-	+ (r) - (c)
DH	+	+ (NP)	-	-
TP	+ (d) +++ (v)	+++ / ++++	+	+
NMLF	+	++	+	-
NPC	-	++	-	++
BON	-	+++	-	+
PtG	++++	+++	+++	+
PtrG	+	-	-	-
TeO	+ / ++	++	-	+
TI	+ / ++	++	+	++
Tp	-	-	-	-
Tm	+	-	-	-
Tega	+	+ / ++	+	- / +
Tegp	+++ (v)	+ / ++	+	-
Ip	-	-	-	-
LI	-	+	-	-
IsM	-	-	-	-
Visc	-	+	-	-
Fr	+	-	-	-
Gc	+	-	+	-
Cb	-	-	-	-
Prtr	-	-	-	-
Os	-	+	-	-
NDL	-	-	-	-

Legende siehe Ende Anhang.

Tab. IV Verbindungen des ventromedialen Thalamus (VM)				
Kerngebiet	ipsilateral		contralateral	
	Afferenzen (Zellen)	Efferenzen (Terminalien)	Afferenzen (Zellen)	Efferenzen (Terminalien)
Gr	-	-	-	-
Mi	-	-	-	-
MP	++(r)	-/++(r)	+(r)	-/+(r)
DP	-	-/+(r)	-	-
LPv	-	-	-	-
LPd	-	-	-	-
MS	-	+	-	+
LS	++(i-r) +(c)	++	+(i-r)	+
DB	-	+	-	+
Std	++(c-i)	-/+(c)	-	-
Stv	++(c-i)	-/+(c)	-	-
Acc	+/+++	+/+++	-	-
AL	-	-	-	-
AM	+	++	-	+/+++
AC	+	+/+++	-	-
Ea	-	++/+++	-	+
POa	+/+++ (r)	++	+(r)	+
Mg	+(d)	++/+++ (d)	-	-
SC	++	++	+	-
TE	-	++	-	+
BN	-	++	-	+
Hb	-	-	-	-
Ep	+	++/+++	-	-/+++
NB	-	++	-	-/+++
VL	++++	++++	-/+	-/+++
VM	++++	++++	-/+	-/+++
A	-/+++	++/+++	-	-/+++
C	-/+	+	-	-
P	+++	+++	++	-/+++
La	-	+(c)+++ (r)	-	-/+++
Lpd	-	+++	-	-/+
Lpv	-	-/+++	-	-
LH	-	+	-	+
VH	++(r)+(c)	-/++(r) -/+(c)	-/+	-
DH	-	-	-	-
TP	++/+++ (v) +/+++ (d)	++(d) +(v)	+	-
NMLF	+/+++	++/+++	+	-/+++
NPC	-	++	-	+
BON	-	+++	-	-/+
PtG	+/+++	++/+++	-/+++	-/+
PtrG	+/+++	+/+++	-/+	-/+
TeO	+	++	-/+	+
TI	++/+++	++++	-/+	+
Tp	-/+++	+/+++	-	-/+
Tm	-/+	+/+++	-	-
Tega	++/+++	++++/++++	+/+++	+
Tegp	+/+++	++/+++	-/+	+
Ip	-	-/+++ (NP)	-	-
LI	-	++	-	-/+
IsM	-	-	-	-
Visc	-	-	-	-
Fr	+/+++	++	-/+	-
Gc	++	++	-/+	-/+++
Cb	-	-	-	-
Prtr	-	-/+	-	-
Os	-	-/+++ (NP)	-	-/+(NP)
Ndl	-	-	-	-

Legende siehe Ende Anhang.

Tab. V Afferente und efferente Verbindungen des rostralen Striatum				
Kerngebiet	ipsilateral		contralateral	
	Afferenzen (Zellen)	Efferenzen (Terminalien)	Afferenzen (Zellen)	Efferenzen (Terminalien)
Gr	+	+	-	-
Mi	+	+	-	-
MP	+	-	-	-
DP	-	-	-	-
LPd	-	+	-	-
LPv	-	++	-	-
MS	-	-	-	-
LS	-	-	-	-
DB	-	-	-	-
Std	+++ (r) -(i) +(c)	++++	-	-
Stv	+++ (r) -(i) +(c)	++++	-	-
Acc	-	+	-	-
AL	-	-	-	-
AM	-	-(r) ++ (c)	-	-
AC	-	-	-	-
Ea	-	++	-	+
POa	-	-	-	-
Mg	-	-	-	-
SC	-	-	-	-
TE	-	-	-	-
BN	-	-	-	-
Hb	-	-	-	-
Ep	-	-	-	-
NB	-	-	-	-
VL	-	-	-	-
VM	-	-	-	-
A	-	-	-	-
C	++++	++	-	-
P	-	-	-	-
La	+++	++	-	-
Lpd	-	-	-	-
Lpv	-	-	-	-
LH	-	-	-	-
VH	-/(+ (r))	-	-	-
DH	-	-	-	-
TP	+	+	-	-
NMLF	-	-	-	-
NPC	-	-	-	-
NPM	-	-	-	-
BON	-	-	-	-
PtG	-	-	-	-
PtrG	-	-	-	-
TeO	-	-	-	-
TI	-	-	-	-
Tp	-	-	-	-
Tm	-	-	-	-
Tega	-	-	-	-
Tegp	-	++	-	-
Ip	-	-	-	-
LI	-	-	-	-
Ism	-	-	-	-
Visc	-	-	-	-
Fr	-	-	-	-
Gc	-	-	-	-
Cb	-	-	-	-
Prtr	-	-	-	-
Os	-	-	-	-
Ndl	-	-	-	-

Legende siehe Ende Anhang.

Tab. VI Afferente und efferente Verbindungen des caudalen und intermediären Striatum				
Kerngebiet	ipsilateral		contralateral	
	Afferenzen (Zellen)	Efferenzen (Terminalien)	Afferenzen (Zellen)	Efferenzen (Terminalien)
Gr	-	+	-	-
Mi	-	+	-	-
MP	+	-	-	-
DP	-	-	-	-
LPd	-	+	-	-
LPv	+	++	-	+
MS	-	-	-	-
LS	-	-	-	-
DB	-	-	-	-
Std	++++	++++	+(c)	++(c) +(r)
Stv	++++	++++	+(c)	++(c) +(r)
Acc	-	++	-	-
AL	-	++	-	-/+
AM	-	-/(r) +++(c)	-	-/(r) +++(c)
AC	-	++	-	-/+
Ea	-	+++	-	++
POa	-	+/+++	-	+
Mg	-	+	-	+
SC	-	+	-	-
TE	-	-	-	-
BN	-	-	-	-
Hb	-	-	-	-
Ep	-	++/+++	-	+
NB	-	-	-	-
VL	-	+	-	-
VM	-	+(r) ++(c)	-	-(r) +(c)
A	-	-	-	-
C	++++	++	-	-
P	-	++	-	-
La	+++	++	-	-
Lpd	-	+	-	-
Lpv	-	++	-	-
LH	-	++	-	++
VH	+(r) -(c)	++(r) -(c)	-	+(r) -(c)
DH	-	+	-	-/+
TP	+	+++	-	++
NMLF	+	++	-	+
NPC	-	-	-	-
NPM	-	+++	-	+
BON	-	++	-	+
PtG	-	++	-	-
PtrG	-	+++ /++++	-	-
TeO	-	+	-	+
TI	+	++	-	+
Tp	-	++	-	-
Tm	-	+	-	-
Tega	-	+++ /++++	-	++
Tegp	-	+++ /++++	-	+
Ip	-	-	-	-
LI	-	+	-	-
Ism	-	-	-	-
Visc	-	-	-	-
Fr	-	+++ (d)	-	-
Gc	-	-	-	-
Cb	++++	++++	+	+/+++
Prtr	-	+++	-	-
Os	-	+	-	-
Ndl	-	-	-	-

Legende siehe Ende Anhang.

Tab. VII Verbindungen des Septum laterale (LS)				
Kerngebiet	ipsilateral		contralateral	
	Afferenzen (Zellen)	Efferenzen (Terminalien)	Afferenzen (Zellen)	Efferenzen (Terminalien)
Gr	-	++	-	-
Mi	-	-	-	-
MP	++	++	-/(C-i)	-
DP	-	-	-	-
LPd	-	-	-	-
LPv	-/+	-	-	-
MS	-	++	-	-
LS	+++	++++	-	+
DB	-	++++	-	-
Std	-	+(c)	-	-
Stv	-	+(c)	-	-
Acc	++	++	-	-
AL	-/+	-	-/+	-
AM	+	++(KG) +++(NP)	+	++(KG) +++(NP)
AC	-	-	-	-
Ea	-	+(c)	-	+(c)
POa	+(d)	+++	+(d)	++
Mg	+	++	-	+
SC	+	+++	-	++
TE	-	+	-	+
BN	-	+	-	+
Hb	-	++	-	-
Ep	-	++	-	+
NB	-	++	-	-
VL	-	+	-	-
VM	++(c)	+(r)++(c)	+(c)	-(r)++(c)
A	++	++	++	+
C	-	+	-	-
P	-	+	-	+
La	-	++(r)	-	-
Lpd	-	-	-	-
Lpv	-	-	-	-
LH	-	+++	-	++/+++
VH	+	+++ (NP)	+	++ (NP)
DH	+	+++ (NP)	+	++ (NP)
TP	++	+/++	++	+
NMLF	+	-	-	-
NPC	-	-	-	-
BON	-	-	-	-
PtG	-	-	-	-
PtrG	-	-	-	-
TeO	-	-	-	-
TI	-	+	-	-/+
Tp	-	-	-	-
Tm	-	-	-	-
Tega	-	-	-	-
Tegp	-	-	-	-
Ip	-	-	-	-
LI	-	-	-	-
Ism	-	-	-	-
Visc	-	-	-	-
Fr	+	-	-	-
Gc	-	-	-	-
Cb	-	-	-	-
Ptr	-	-	-	-
Os	-	-	-	-
Ndl	-	-	-	-

Legende siehe Ende Anhang.

Tab. VIII Verbindungen des Septum mediale (MS)				
Kerngebiet	ipsilateral		contralateral	
	Afferenzen (Zellen)	Efferenzen (Terminalien)	Afferenzen (Zellen)	Efferenzen (Terminalien)
Gr	++	++	-	-
Mi	+	+	-	-
MP	++++	++/+++	+(c)	+
DP	++	+	-	-
LPv	+(c)	+	-	-
LPd	+	+	-	-
MS	++++	++++	+	+
LS	+	+(r) ++(c)	-	-
DB	+(c) +++(r)	++++	-	+
Std	-	+(c)	-	-
Stv	-	+(c)	-	-
Acc	++/+++	++/+++	-	-
AL	+/++	-	-	-
AM	++/+++ (v)	++(KG)++++(NP)	+(v)	+(KG)++++(NP)
AC	+/++	-	-/+	-
Ea	-/+	++(c)	-	++(c)
POa	+(r) ++/+++ (c)	++(KG) ++++(NP)	+	+(KG) ++/+++ (NP)
Mg	++	+++	-	++
SC	++	+(KG) +++(NP)	+	+(KG) ++/+++ (NP)
TE	-	+++	-	+
BN	-	+++	-	+
Hb	+	++	-	-
Ep	-	-	-	-
NB	-	-	-	-
VL	-	-	-	-
VM	+(ganz c)	-	+(ganz c)	-
A	+++	-	+	-
C	++(c)	-	++(c)	-
P	-	-	-	-
La	-	-	-	-
Lpd	-	-	-	-
Lpv	-	-	-	-
LH	+(d)	++	+(d)	+
VH	+	++	+	+
DH	++	+++	-	++
TP	++	+(d) ++/+++ (v)	+	++/+++ (v)
NMLF	-/+	-	-/+	-
NPC	-	-	-	-
BON	-	-	-	-
PtG	++	-	+	-
PtrG	-	-	-	-
TeO	-	-	-	-
TI	-	-	-	-
Tp	-	-	-	-
Tm	-	-	-	-
Tega	+(d)	-	+(d)	-
Tegp	+(v)	-	+(v)	-
Ip	-	-	-	-
LI	-	-	-	-
IsM	-	-	-	-
Visc	+	-	-	-
Fr	+++ (N. raphes)	-	++ (N. raphes)	-
Gc	+	-	-	-
Cb	-	-	-	-
Prtr	-	-	-	-
Os	-	-	-	-
Ndl	-	-	-	-

Legende siehe Ende Anhang.

Tab. IX Verbindungen des Kerns des Diagonales Bandes von Broca (DB)				
Kerngebiet	ipsilateral		contralateral	
	Projektionen aus dem DB (Zellen im DB)	Projektionen zum DB (Axonale Terminalien im DB)	Projektionen aus dem DB (Zellen im DB)	Projektionen zum DB (Axonale Terminalien im DB)
MP	++	++++	-	+(c)
MS	+(c) +++(r)	++++	-	+
LS	-	++++	-	-
Str (r)	-	-	-	-
Str (c-i)	-	-	-	-
POa	++	++++(c) ++(r)	+	++(c) -(r)
VM	-	+	-	+
A	-	++	-	+
C	-	+++ (c) +(r)	-	++(c)+(r)
P	-	-	-	-

Legende:

- + sehr geringe Dichte der Zellen und Terminalien
- ++ geringe Dichte der Zellen und Terminalien
- +++ hohe Dichte der Zellen und Terminalien
- ++++ sehr hohe Dichte der Zellen und Terminalien
- c caudaler Bereich des Kerngebietes
- i intermediärer Bereich des Kerngebietes
- r rostraler Bereich des Kerngebietes
- v ventraler Bereich des Kerngebietes
- d dorsaler Bereich des Kerngebietes
- KG Somata des Kerngebietes
- NP Neuropil des Kernbereiches

8. Abkürzungsliste

Das Abkürzungsverzeichnis gibt die Fachtermini der verwendeten Abkürzungen an. Bei Kerngebieten, bei denen wegen einer besseren Lesbarkeit im Text andere Bezeichnungen verwendet wurden, sind diese zusätzlich aufgelistet.

Abkürzung	Fachterminus	im Text verwendete Bezeichnung
III	Nucleus nervi oculomotorii	
IV	Nucleus nervi trochlearis	
Vm	Nucleus motorius nervi trigemini	
N. II	Nervus opticus	
N. V	Nervus trigeminus	
N. VII	Nervus facialis	
N. VIII	Nervus stato-acusticus	
N. IX	Nervus glossopharyngeus	
N. X	Nervus vagus	
N. XII	Nucleus hypoglossus	
A	Nucleus anterior thalami	anteriorer Thalamus
Acc	Nucleus accumbens	
AC	Amygdala pars centralis	centrale Amygdala
AL	Amygdala pars lateralis	laterale Amygdala
AM	Amygdala pars medialis	mediale Amygdala
BN	Bed Nucleus der pallialen Kommissur	
Bo	Bulbus olfactorius	
BON	Basaler optischer Nucleus	
C	Nucleus centralis thalami	zentraler Thalamus
Ca	Nucleus caudalis	
Cb	Nucleus cerebelli	
Cer	Cerebellum	
DB	Nucleus des Diagonalen Bandes von Broca	
DH	Nucleus hypothalamicus dorsalis	dorsaler Hypothalamus
DP	Pallium dorsale	
Ea	Nucleus entopeduncularis anterior	
Ep	Nucleus entopeduncularis posterior	
Fr	Formatio reticularis	
Gc	Griseum centrale	
Gr	Granulärzellschicht des Bulbus olfactorius	
Hb	Nucleus habenularis	Habenula
Ip	Nucleus interpeduncularis	
Ism	Nucleus isthmi	
La	Nucleus lateralis thalami, pars anterior	anteriolateraler Thalamus
LH	Nucleus hypothalamicus lateralis	lateraler Hypothalamus
LI	Nucleus lemnisci lateralis	

Il	Lemniscus lateralis	
LPd	Pallium laterale, pars dorsale	dorsales Pallium laterale
Lpd	Nucleus lateralis thalami, pars posterodorsalis	posterodorsaler lateraler Thalamus
LPv	Pallium laterale, pars ventrale	ventrales Pallium laterale
Lpv	Nucleus lateralis thalami, pars posteroventralis	posteroventraler lateraler Thalamus
LS	Septum laterale	
Mg	Nucleus praeopticus magnocellularis	
Mi	Mitralzellschicht des Bulbus olfactorius	
MP	Pallium mediale	
MS	Septum mediale	
NB	Nucleus Bellonci	
NDL	Nucleus dorsolateralis	
NMLF	Nucleus fasciculi longitudinalis medialis	
NPC	Nucleus der posterioren Kommissur	
OS	Oliva superior	
P	Nucleus posterior thalami	posteriorer Thalamus
Pa	Papilla amphibiorum	
Pb	Papilla basilaris	
POa	Nucleus praeopticus anterior	Area praeoptica anterior
Prtr	Nucleus praetrigeminalis	
PtG	praetectales Grau	
PtrG	praetorales Grau	
SC	Nucleus suprachiasmaticus	
Std	Striatum dorsale	
Str	Striatum	
Stv	Striatum ventrale	
TE	Eminentia thalami	
TeO	Tectum opticum	
Tega	anteriores Tegmentum	
Tegp	posteriores Tegmentum	
Tel	Telencephalon	
TI	Torus semicircularis, Nucleus laminaris	
Tm	Torus semicircularis, Nucleus magnocellularis	
Tp	Torus semicircularis, Nucleus principalis	
TP	Tuberculum posterius	posteriores Tuberculum
Ts	Torus semicircularis	
VH	Nucleus hypothalamicus ventralis	ventraler Hypothalamus
Visc	Nucleus visceralis secundarius	
VL	Nucleus thalami ventrolateralis	ventrolateraler Thalamus
VM	Nucleus thalami ventromedialis	ventromedialer Thalamus
vq	Ventriculus quartus	
vq	Ventriculus tertius	

Danksagung

An erster Stelle möchte ich mich bei meinem Betreuer Prof. Dr. Wolfgang Walkowiak für die Stellung des Themas und für wertvolle Diskussionen und hilfreiche Anregungen im Verlauf der Arbeit danken.

Weiterhin danke ich Prof. Dr. Ansgar Büschges für die Übernahme des Zweitgutachtens.

Bei den ehemaligen und jetzigen Mitarbeitern der Arbeitsgruppe möchte ich mich ganz herzlich für das gute Arbeitsklima bedanken. An die gemeinsame Zeit denke ich oft und gerne zurück. Ingrid Markus danke ich besonders für die wertvolle Hilfe bei Arbeiten im Labor und für viele anregende Gespräche. Mein ganz besonderer Dank gilt Heike Endepols, die stets ein offenes Ohr für alle Probleme und Fragen hatte und mir mit besonderer Hilfsbereitschaft bei technischen und fachlichen Belangen konstruktiv zur Seite stand.

Außerdem möchte ich mich bei den Mitarbeitern der Arbeitsgruppe von Prof. Büschges für ihre Mithilfe bedanken. Besonders danke ich Alexander Krause, der mir bei Computerproblemen immer kompetent helfen konnte, und Dr. Hans Scharstein für wertvolle Anregungen bei statistischen Fragen.

Bei der Korrektur des Manuskriptes haben mir Heike Endepols, Christian Güse, Bettina Möller, Geraldine Roden, Norbert Roden und Frank Nischk geholfen, wofür ich mich herzlich bedanken möchte.

Ganz besonders möchte ich meinen Eltern danken. Ohne Eure Hilfe und liebevolle Unterstützung wäre mein Studium nicht möglich gewesen.

Erklärung

Ich versichere, dass ich die von mir vorgelegte Dissertation selbständig angefertigt, die benutzten Quellen und Hilfsmittel vollständig angegeben und diejenigen Stellen der Arbeit - einschließlich Tabellen, Karten und Abbildungen -, die anderen Werken im Wortlaut oder dem Sinn nach entnommen sind, in jedem Einzelfall als Entlehnung kenntlich gemacht habe; dass diese Dissertation noch keiner anderen Fakultät oder Universität zur Prüfung vorgelegen hat; dass sie - abgesehen von unten angegebenen Teilpublikationen - noch nicht veröffentlicht worden ist sowie, dass ich eine solche Veröffentlichung vor Abschluss des Promotionsverfahrens nicht vornehmen werde. Die Bestimmungen dieser Promotionsordnung sind mir bekannt. Die von mir vorgelegte Dissertation ist von Prof. Dr. Wolfgang Walkowiak betreut worden.

Köln den 12.12.2002

Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde untersucht, welche Bedeutung der Thalamus, das Striatum und verschiedene septale Kerne für das akustisch gesteuerte Verhalten der Anuren haben. Dabei stand die Frage nach audiomotorischen Integrationsprozessen im Vordergrund. Die Untersuchungen wurden *in vitro* an einem isolierten Ganzhirnpräparat des Grauen Laubfroschs (*Hyla versicolor*) und der Chinesischen Rotbauchunke (*Bombina orientalis*) durchgeführt. Akustische Signale wurden durch eine elektrische Stimulation des posterioren Astes des Nervus stato-acusticus (N. VIII) simuliert. Bei einigen Experimenten im Striatum wurde außerdem der Nervus opticus (N. II) gereizt.

Anhand der extrazellulären Registrierung evozierter Potentiale im Diencephalon wurde untersucht, welche thalamischen Kerne auditorische Eingänge erhalten. Es konnte gezeigt werden, dass neben dem posterioren, centralen und anterioren Kern des dorsalen Thalamus auch der ventromediale Thalamus an der Verarbeitung auditorischer Informationen beteiligt ist. Extrazelluläre Tracingstudien mit dem neuronalen Marker Neurobiotin belegten Eingänge des ventromedialen Thalamus aus vorgeschalteten Hörbahnstationen. Die physiologischen und anatomischen Befunde erlaubten eine Erweiterung des bisherigen Modells der aufsteigenden Hörbahn der Anuren.

Die extrazellulären Tracingstudien zeigten außerdem, dass die vier untersuchten thalamischen Kerne unterschiedlich starke deszendierende Projektionen zu prämotorischen Zentren und endokrinen Regulationszentren aufweisen. Die Funktion dieser thalamischen Kerne bei der audiomotorischen Integration wird diskutiert.

Extrazellulär- und Intrazellulärableitungen im Telencephalon belegten, dass das Striatum auditorische und visuelle Informationen verarbeitet. Dabei wurde erstmals gezeigt, dass bimodale Eingänge auf der zellulären Ebene konvergieren. Extrazelluläre Tracingstudien und Einzelzellanfärbungen mit Neurobiotin wiesen weitreichende deszendierende Projektionen des Striatum zu prämotorischen Zentren und endokrinen Regulationszentren nach, welche das akustisch gesteuerte Verhalten der Anuren direkt und indirekt beeinflussen können. Das Striatum stellt somit eine wichtige sensomotorische Interfacestruktur im Telencephalon der Anuren dar. Bei erstmals durchgeführten Tracingstudien im Septum laterale und im Septum mediale wurden hingegen keine Projektionen zu prämotorischen Zentren

nachgewiesen. Es wird diskutiert, inwiefern das Septum das akustisch gesteuerte Verhalten von Anuren indirekt beeinflussen könnte.

Ein Vergleich der Verbindungen des Striatum der Anuren mit den Basalganglien der Amnioten unterstützt die Hypothese, dass das bei Anuren ein dorsales striatopallidales System existiert, welches große Ähnlichkeiten mit dem der Amnioten aufweist.

Abstract

The aim of this study was to investigate the role of the thalamus, striatum, and different septal nuclei for the acoustically guided behaviour in anurans, with a focus on the mechanisms of audiomotor integration. Experiments were performed in vitro, using an isolated brain preparation of the grey tree frog (*Hyla versicolor*) and the Chinese fire-bellied toad (*Bombina orientalis*). Acoustic signals were simulated by electrical stimulation of the posterior branchlet of the vestibular-auditory nerve (N.VIII). In some experiments in the striatum, the optical nerve (N.II) was electrically stimulated as well.

Using extracellular recording of evoked potentials, dorsal and ventral thalamic nuclei were mapped according to their responses after auditory nerve stimulation. It could be shown that, additional to the posterior, central, and anterior thalamic nuclei, also the ventromedial thalamus processes auditory information. Extracellular tracing studies with the neuronal marker Neurobiotin revealed afferents of the ventromedial thalamus from lower auditory nuclei. The physiological and anatomical data add a new component to the current model of the ascending auditory system. Furthermore, extracellular tracing studies demonstrated that the four thalamic nuclei send descending projections of different strengths to premotor and endocrine regulatory nuclei. The role of these thalamic nuclei for audiomotor integration is discussed.

Extracellular and intracellular recordings in the telencephalon revealed that the striatum processes auditory and visual information. It was demonstrated for the first time that auditory and visual inputs converge on the same striatal neurons. Extracellular and intracellular labeling studies with neurobiotin in the striatum yielded far-reaching descending projections to nuclei which may modify acoustically guided behavior directly or indirectly. Thus the anuran striatum represents an important sensomotor interface in the anuran telencephalon. In contrast, tracing studies

conducted for the first time in the lateral and medial septum showed that these nuclei do not project to premotor areas. The possibility of an indirect influence of septal nuclei on the acoustically guided behaviour is discussed

A comparison of connections of the anuran striatum with those of the amniote basal ganglia supports the hypothesis that a dorsal striatopallidal system exists in anurans, which is similar to its amniote counterpart.

Lebenslauf

Persönliche Angaben

Name	Katja Roden
Geburtsdatum	22.09.1971
Geburtsort	Bendorf, Rheinland-Pfalz
Staatsangehörigkeit	deutsch

Schulausbildung

1978-1982	Grundschule Friedrichstraße in Wittlich
1982-1991	Hilda-Gymnasium in Koblenz
	Abitur 1991

Hochschulstudium

1991-1998	Diplomstudiengang Biologie an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf Hauptfach: Zoologie Nebenfächer: Biochemie, Physik Diplom am 07.10.1998
1992-1998	Magisterstudiengang Philosophie, Germanistik und Medienwissenschaft an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf Abschluss der Medienwissenschaft am 07.10.1998 als freiwilliges Zusatzfach der Diplomprüfung Biologie
1994-1995	Auslandsstudienjahr an der Université de Nantes, Frankreich, als ERASMUS-Stipendiatin
1998 bis heute	Promotionsstudiengang Biologie an der Universität zu Köln